

NN31545.1757

BIBLIOTHEEK
STARINGGEBOUW

ICW nota 1757

januari 1987



nota

— instituut voor cultuurtechniek en waterhuishouding, wageningen —

BIOLOGISCHE REINIGING VAN MET OLIE VERONTREINIGDE GROND

Verslag van een onderzoek naar de afbraak
van olie in grond

A.E. Boekhold



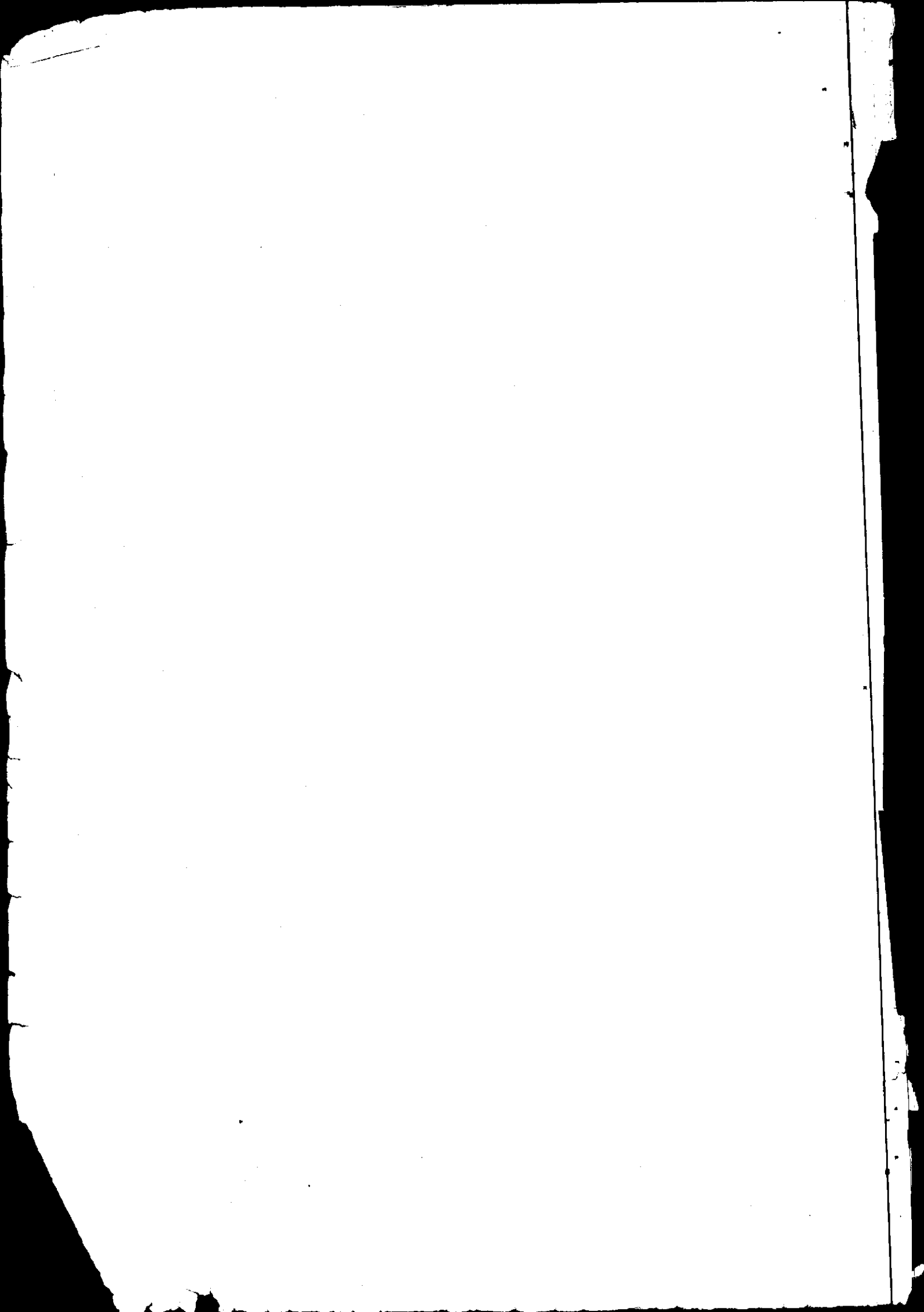
Nota's van het Instituut zijn in principe interne communicatie-middelen, dus geen officiële publikaties.

Hun inhoud varieert sterk en kan zowel betrekking hebben op een eenvoudige weergave van cijferreeksen, als op een concluderende discussie van onderzoeksresultaten. In de meeste gevallen zullen de conclusies echter van voorlopige aard zijn omdat het onderzoek nog niet is afgesloten.

Bepaalde nota's komen niet voor verspreiding buiten het Instituut in aanmerking

24 MAART 1987

JSN 257-62



BIOLOGISCHE REINIGING VAN MET OLIE VERONTREINIGDE GROND

Verslag van een onderzoek naar de afbraak van olie in grond

A.E. Boekhold

Wageningen, juni 1986

VOORWOORD

In het kader van mijn studie milieuhygiene/bodemverontreiniging aan de landbouwhogeschool te Wageningen is een zes-maands doktoraal-onderzoek uitgevoerd op het Instituut voor Cultuurtechniek en Waterhuishouding (ICW) te Wageningen in de periode mei-december 1985.

Langs deze weg wil ik Jan Hoeks van het ICW en Maurice Huntjens van de vakgroep mikrobiologie van de LH bedanken voor hun goede begeleiding tijdens het onderzoek en verslaglegging.

Tevens wil ik Adrienne Boekhold bedanken voor de uitstekende samenwerking tijdens onze gezamenlijke stage op het ICW.

De medewerkers van het laboratorium Waterkwaliteit van het ICW wil ik bedanken voor hun steun bij de praktische uitvoering van de experimenten.

Sandra Boekhold

INHOUDSOPGAVE

pagina:

1	INLEIDING	1
2	LITERATUURONDERZOEK LANDFARMING	2
2.1	inleiding	2
2.2	onderzoek in West Europa	2
2.3	onderzoek in de Verenigde Staten	11
2.4	nabeschouwing	17
2.5	literatuur	20
3	ICW-PROJEKT: BIOLOGISCHE REINIGING VAN VERVUILDE GROND DOOR MIDDEL VAN 'LANDFARMING'	21
4	DE AFBRAAK VAN RUWE OLIE EN GASOLIE IN GROND	23
4.1	monsternamen en voorbehandeling van de verontreinigde grond	23
4.2	potproef: met ruwe olie verontreinigde grond	26
4.2.1	resultaten	26
4.2.2	konklusies en diskussie	31
4.3	potproef: met gasolie verontreinigde grond	33
4.3.1	resultaten	33
4.3.2	konklusies en diskussie	35
5	DE ZUURSTOFKONSUMPTIE VAN MET GASOLIE VERONTREINIGDE GROND	37
5.1	materialen en methode	37
5.2	resultaten	37
5.3	konklusies en diskussie	39
6	DE ZUURSTOFKONSUMPTIE VAN ZUIVERE OLIEKOMPONENTEN IN GROND	40
6.1	materialen en methode	40
6.2	resultaten	41
6.3	konklusies en diskussie	43

7	DE AFBRAAK VAN ZUIVERE OLIEKOMPONENTEN IN GROND	44
7.1	inleiding	44
7.2	materialen en methode	44
7.3	resultaten	46
7.4	konklusies en diskussie	51

8	EINDKONKLUSIE	53
---	---------------	----

	SAMENVATTING	55
--	--------------	----

BIJLAGEN: 1 PRINCIPE VAN DE SAPROMAT

2 CHROMATOGRAMMEN BIJ HOOFDSTUK 4

3 CHROMATOGRAMMEN BIJ HOOFDSTUK 7

4 GEBRUIKTE CHEMICALIEN

5 ANALYSEMETHODEN

1. INLEIDING

Sinds 1985 houdt het ICW zich bezig met een proefproject landfarming. Landfarming is een methode van bodemsanering waarbij de omstandigheden voor mikrobiologische afbraak van verontreinigende verbindingen worden geoptimaliseerd. Bij dit project gaat het om een olieverontreiniging.

Het is al langere tijd bekend dat mikroorganismen in staat zijn koolwaterstoffen om te zetten in CO₂ en H₂O. Echter, pas sinds kort wordt onderzoek gedaan naar de mogelijkheden die dit biedt om met olie verontreinigde bodems te saneren.

Om landfarming als bodemsaneringstechniek interessant te laten zijn is het noodzakelijk de kosten zo laag mogelijk te houden. Een van de belangrijkste kostenfactoren is de pacht van het terrein waarop de landfarm wordt gesitueerd. Door de omstandigheden voor mikrobiologische afbraak te optimaliseren kan de pachtperiode zo kort mogelijk worden gehouden. Nader onderzocht dient te worden welke omstandigheden als "optimaal" kunnen worden aangemerkt. Zaken als de nutriëntenvoorziening in de grond, de temperatuur, de verdeling van de olie door de grond, en de zuurstofvoorziening in de grond zijn hier van belang. Ook andere factoren kunnen van invloed zijn op de afbraaksnelheid van olie door mikroorganismen. Als ondersteuning van het ICW-project is een laboratoriumonderzoek uitgevoerd, waarin voornamelijk het effect van bemesting op de afbraaksnelheid van olie is onderzocht.

In dit verslag wordt eerst een literatuuronderzoek beschreven waarin een tiental artikelen worden besproken. Hierna volgt een beschrijving van de experimenten, die kunnen worden onderverdeeld in:

- * een potproef met de grond die het ICW gebruikt in haar veldproef
- * het meten van het zuurstofverbruik van zowel grond van het ICW-proefveld als grond van de proefboerderij Sinderhoeve van het ICW waaraan in het laboratorium koolwaterstoffen zijn toegevoegd (Sinderhoevezand).

- * een potproef met Sinderhoevezand.

Tot slot volgt een samenvattende konklusie van de beschreven experimenten, waarin is getracht enkele adviezen voor de praktijk van landfarming te formuleren.

2 LITERATUURONDERZOEK LANDFARMING

2.1 inleiding

Op zoek naar literatuur over landfarmingsonderzoek, in het bijzonder toegepast op olie, valt op dat er een schaarste bestaat aan rapporten over de biologische afbreekbaarheid van olie in bodemsystemen in vergelijking met dergelijke onderzoeken in watersystemen. Verder bestaat er een opmerkelijk verschil in de aanpak van landfarmingsonderzoek in West Europa en de Verenigde Staten.

In de VS wordt landfarming gezien als een veelbelovende methode om op een milieuvriendelijke en tegelijkertijd voordelige manier van afval uit de petroleumindustrie af te komen.

Dit in tegenstelling tot West Europa, waar landfarming wordt gezien als een methode om met olie verontreinigde bodems te saneren. In dit literatuuronderzoek is een keuze gemaakt uit de bestaande artikelen op dit gebied waarbij bovenstaand verschil in de keuze is betrokken. In de komende paragrafen wordt een review-artikel uit zowel West Europa als de V.S. besproken samen met enkele specifieke onderzoeksartikelen uit de betreffende gebieden. Daarna wordt een nabeschouwing gegeven van de beschreven experimenten, waarin de verschillende resultaten met elkaar zijn vergeleken.

2.2 onderzoek in West Europa

VANLOOKE (1975) heeft een review-artikel geschreven over de gevolgen van vervuiling van grond en grondwater met olie als gevolg van bijvoorbeeld ongelukken tijdens bovengrondse transporten. De consequenties van een dergelijk olielek zijn duidelijk: De grond wordt vergiftigd, de makro- en mikroecologie worden drastisch verstoord, bomen sterven af en er treedt stankoverlast op. Als de olie in de diepere grondlagen doorlekt kan gevaar ontstaan voor de drinkwatervoorziening. Zelfs minder dan 1 ppm olieprodukt in het grondwater geeft zo'n smaak- en reukverslechtering dat kleine hoeveelheden olie grote volumes grondwater ongeschikt kunnen maken voor drinkwater.

Naast een aantal mechanische technieken om de negatieve gevolgen van een olieverontreiniging te minimaliseren (afgraven van de grond, van verontreinigd grondwater + oliekoek, etc.), kan een hoog saneringsrendement worden verkregen door gebruik te maken van mikrobiologische metabolische reacties in de grond.

Mikroorganismen zijn in staat koolwaterstoffen om te zetten in CO₂ en H₂O (mineralisatie) en celmateriaal (assimilatie). Deze afbraak kan worden versneld door de omstandigheden voor de betreffende mikro-organismen te optimaliseren.

De biodegradatie van koolwaterstoffen is in zowel fundamenteel als toegepast onderzoek bestudeerd.

Hieruit blijkt dat milieuomstandigheden de afbreekbaarheid van olie in grond sterk kunnen beïnvloeden. Dit betreft zowel de zuurstof- als de nutrientenvoorziening. Ook het vochtgehalte van de grond is van belang, omdat de afbraak voornamelijk plaatsvindt aan het olie-watergrensvlak, maar ook omdat zuurstofdiffusie bemoeilijkt wordt door teveel water. De pH en de temperatuur spelen eveneens een belangrijke rol.

Wat betreft de kinetiek van de afbraak, mineralisatie en immobilisatie van koolwaterstoffen in de bodem kan gesteld worden dat de biodegradatie een langzaam proces is, maar dat nog weinig kinetische parameters bepaald zijn. Sommige auteurs gaan uit van een eerste-orde-kinetiek (afbraaksnelheid evenredig met de olieconcentratie) met als voorwaarde dat slechts het substraat zelf (de koolwaterstoffen) limiterend kan worden voor mikrobiologische groei. Anderen gaan uit van sigmoidale kinetiek (is gebaseerd op een groeicurve van een bacteriepopulatie, gekenmerkt door een lag-fase, een exponentiele fase en een stationaire fase) om de afbraak van koolwaterstoffen in de bodem te kunnen simuleren (bv. VERSTRAETE, 1975). Bij praktijkproeven geeft een nulde-orde-kinetiek (afbraaksnelheid is konstant) een goede schatting van het afbraakproces, omdat dan vaak andere factoren als de substraat-concentratie limiterend kunnen worden (bv. temperatuur, nutrientenvoorziening, pH, etc.).

DE BORGER (1978) beschrijft een onderzoek waarin een evaluatie van belangrijke milieufactoren met betrekking tot microbiologische sanering wordt gegeven. De afbraakexperimenten zijn uitgevoerd in vaten van 20 liter gevuld met 10 kg grond.

De bodemvochtigheid werd op ongeveer veldcapaciteit gebracht.

Drie soorten olie werden onderzocht in een concentratie van 5 gr/kg grond (0.5%). Tabel I vermeldt de samenstelling van de gebruikte olie.

tabel I (naar DE BORGER, 1978)

Composition (vol %) of the gasoils

	Bachaquero	Nigeria	Kuwait
Paraffins.....	42.0	30.5	62.0
Naphtenes.....	48.0	47.5	24.0
Aromates.....	8.0	22.0	14.0

De CO₂-produktie en de O₂-konsumptie van de grond werden gemeten, en door middel van extractie van de grond werd het "total fatty matter"-gehalte in de grond bepaald (weegmethode).

De invloed van bemesten werd bepaald door stikstof en fosfaat toe te dienen in een verhouding van C:N:P=100:10:1. Als N-bron werd NH₄NO₃ gebruikt en als P-bron K₂HPO₄. Uit dit experiment bleek dat het toevoegen van anorganische nutriënten tot gevolg heeft dat de afbraak met een faktor 1.5 toeneemt (zie tabel II).

Met behulp van kalk zijn drie pH-nivo's gesteld, te weten pH 4.2, pH 7.3 en pH 9.0. Uit tabel III valt af te lezen dat een neutrale pH optimaal is.

tabel II (naar DE BORGER, 1978)

Influence of N, P, K on the biodegradation of gasoil in the A-horizon of a podzol. Incubation at 20 C, pH 4.3, soil moisture content 13 percent, during 42 days

gasoil, g/kg wet soil	Addition	Respiration		% oxidation		% disappearance total	
		g/kg wet soil		O ₂	CO ₂	fatty matter	
		O ₂	CO ₂				
_____	_____	0.88	0.97	___	___	___	
_____	N,P,K	0.76	0.79	___	___	___	
Bachaquero, 5	_____	1.23	1.47	7	9	15	
Bachaquero, 5	N,P,K	2.11	2.33	12	15	23	
Kuwait, 5	_____	2.69	2.58	15	16	35	
Kuwait, 5	N,P,K	4.19	2.84	24	18	43	

tabel III (naar DE BORGER, 1978)

Influence of the pH on the biodegradation of Bachaquero gasoil in a podzol <1>

pH	Respiration		% oxidation		% degradation <2>		
	g/kg wet soil				total		
	O ₂	CO ₂	O ₂	CO ₂	fatty matter	alkanes	aromatics
4.2	2.67	2.41	15	15	25	43	34
7.3	2.96	3.23	16	21	48	71	78
9.0	2.61	1.91	15	12	34	36	43

<1> Moisture content 18 percent, 22 C, addition of 5 g gasoil/kg wet soil, C/N/P=100:10:1.

<2> After 50 days incubation

Naar aanleiding van een eerder gepubliceerd onderzoek waarin stond dat het gebruik van oleofiele (niet-waterminnende) meststoffen is aan te bevelen, zijn twee organische fosforbronnen toegevoegd aan de verontreinigde grond. De resultaten staan vermeld in tabel IV. De hoogst gemeten afbraaksnelheid bedroeg 130 mg olie per kg grond per dag. De organische fosforbron geeft ongeveer gelijke afbraaksnelheden in de grond te zien als de anorganische fosforbron. Hieruit wordt gekonkludeerd dat het niet nodig is organische meststoffen te gebruiken.

tabel IV (naar DE BORGER, 1978)

Effects of inorganic and organic fertilizers on oil decomposition in a podzol. The soil received 5.0 g gasoil/kg soil and was adjusted to C:N:P = 100/10/1 and pH 7.5. Incubation at 20 C, 7 weeks

		average rate of
gasoil	Additive	oil decomposition
		(mg/kg soil, day)
-----	-----	-----
Bachaquero	NH ₄ NO ₃ , KH ₂ PO ₄ , Ca(OH) ₂	48,6
	NH ₄ NO ₃ , glycerophosphate,	
	triethylphosphate, Ca(OH) ₂	35,7
Kuwait	NH ₄ NO ₃ , KH ₂ PO ₄ , Ca(OH) ₂	101,4
	NH ₄ NO ₃ , glycerophosphate,	
	triethylphosphate, Ca(OH) ₂	130,0

Deze konklusie lijkt voorbarig omdat alleen organische fosforbronnen in dit experiment onderzocht zijn. Uit dergelijke resultaten mag niet gekonkludeerd worden dat organische stikstof eveneens geen verschil in afbraaksnelheid bewerkstelligt. Afgezien van het effect van organisch en anorganisch gebonden nutriënten op de afbraaksnelheid van olie kan bovendien verschil in uitspoeling optreden bij beide vormen. Dit kan wel degelijk een argument zijn om te kiezen voor organisch gebonden nutriënten.

organisch / anorganisch gebonden nutriënten
 → 1) geen afbraaksnelheid
 2) uitspoeling

De invloed van de temperatuur is onderzocht door de met 5 gr olie/kg verontreinigde grond 50 dagen te incuberen bij verschillende temperaturen (pH=7, NH_4NO_3 en K_2HPO_4 in een verhouding C:N:P=100:10:1).

Een afbraak van 36, 43 en 67% van het "total fatty matter" werd geregistreerd bij 4, 10 en 20 graden celsius respectievelijk. Bij lage temperaturen vindt dus wel afbraak plaats, in de zomer is de hoogste afbraaksnelheid te verwachten.

Het vochtgehalte van de grond bleek in de range van 75-200% van de veldcapaciteit geen meetbaar verschil in het afbraakproces te geven.

In met olie vervuilde grond bleek, zoals verwacht, geen significante afbraak van de olie plaats te vinden onder anaerobe omstandigheden.

De invloed van de samenstelling van het oliemengsel op de totale afname van de olieconcentratie is bestudeerd door de grond te incuberen met drie soorten olie.

Hieruit bleek dat de biologische afbreekbaarheid van de olie evenredig is met het gehalte verzadigde en aromatische koolwaterstoffen en omgekeerd evenredig met het gehalte naftene (teerachtige) koolwaterstoffen.

De hoeveelheid olie bleek van weinig invloed te zijn op het totale afbraakpercentage. Dit kan betekenen dat het afbraakproces via een eerste-orde-kinetiek (afbraaksnelheid evenredig met olieconcentratie) verloopt.

Uit tabel II en III blijkt dat ongeveer eenderde tot de helft van de verbruikte hoeveelheid koolwaterstoffen compleet geoxideerd wordt tot CO_2 . Dit is niet verwonderlijk omdat mikroorganismen ongeveer de helft van het substraat-C gebruiken voor celopbouw.

Incuberen van "oliegrond" met een portie grond welke al geadapteerd is aan de olie bleek de adaptatietijd van de vers verontreinigde grond te verkleinen. Echter, na 50 dagen werd het effect van inoculeren verwaarloosbaar. Het toevoegen van biomassa versnelt de afbraak van olie in grond dus niet.

VERSTRAETE (1975) onderzocht de biotransformatie van gasolie in grond. Een zure zwarte podzolgrond werd op veldcapaciteit gebracht en in porties van 10 kg gescheiden.

Temp
hoe hoger
hoe hoger
afbraak

met afbraak van
2 soorten CH
naftene

hoeveelheid olie
in werk
op afbraak

helfte C-substraat: celopbouw
 $\frac{1}{3} - \frac{1}{2}$ " : CO_2

tabel V (naar VERSTRAETE, 1975)

Aerobic breakdown of topped gasoils in the soil surface horizon

	% degraded after 42 days of incubation			t 1/2* (days)
	alkanes	aromatics	total fatty matter	
5000 ppm Bachaquero pH 4.5	22.8	11.5	16.5	161
5000 ppm Bachaquero N and P fertilizers pH 4.5	24.0	14.1	18.8	140
5000 ppm Bachaquero inoculum pH 4.5	20.4	11.5	17.4	152
5000 ppm Bachaquero N and P fertilizers inoculum pH 4.5	14.8	2.0	9.9	279
5000 ppm Bachaquero pH 7.4	37.8	35.5	16.5	161
5000 ppm Bachaquero N and p fertilizers pH 7.4	60.0	55.7	40.6	56
5000 ppm Bachaquero N and P fertilizers pH 8.5	30.6	42.5	28.2	88
5000 ppm Nigeria N and P fertilizers pH 7.4	80.6	62.7	64.3	28
5000 ppm Kuwait N and P fertilizers pH 7.4	90	67.5	76.6	20

*De halfwaardetijd is berekend om een vergelijking mogelijk te maken met experimenten uit andere artikelen. Zij zijn slechts berekend aan de hand van twee waarnemingen!

De invloed van vier factoren op de afbraaksnelheid werd onderzocht: De hoeveelheid nutriënten in de grond, de bacteriepopulatie in de grond, de pH van de grond en de samenstelling van de gasolie.

Uit tabel V blijkt dat de afbraak van gasolie in een zure podzol-grond langzaam verloopt, en dat de alkaanfractie beter afbreekbaar is dan de aromatische fractie. Ook blijkt dat de pH een belangrijke limiterende faktor is voor biodegradatie. De afbraaksnelheid wordt verdubbeld als de pH van de grond naar een neutrale waarde wordt gebracht. Deze faktor gekombineerd met een nutrientengift in een verhouding van C:N:P=100:10:1 (door toevoeging van NH_4NO_3 en K_2HPO_4) zorgt voor een scherpe stijging van de afbraaksnelheid van gasolie.

Enten van de grond met een al geadapteerde bacteriepopulatie had weinig effect

Simulatie van de afbraak van olie in grond geeft een redelijke benadering van de geobserveerde processen als uitgegaan wordt van sigmoidale asymmetrische kinetiek. Als de resultaten van dit experiment in een grafiek gezet worden (hoeveelheid geconsumeerde zuurstof -g O_2/kg grond- uitgezet tegen de tijd) ontstaat een curve met een typische S-vorm. De volgende vergelijking is van toepassing op deze situatie:

$$\left(\frac{dy}{dt}\right)^{1/a} = k(y^{1/a} + b)(c_0 - y^{1/a})$$

$$y = \left(c_0 - \frac{b + c_0}{(b/c_0) \exp(k(c_0 + b)t) + 1}\right)^a$$

Waarin:

y - hoeveelheid geconsumeerde zuurstof; mg O_2/kg grond

t - dagen

$c_0(a)$ - zuurstofopname aan het eind van de "acclimation phase"

$b(a)$ - initiele hoeveelheid koolwaterstofafbrekende biomassa

a - coefficient van asymmetrie

k - snelheidskonstante

k' - helling van het buigpunt

De parameters a, b, c0(a) en k' zijn berekend volgens de "least sum of squares of surface"-methode, en staan vermeld in de volgende tabel:

Oxygen uptake of a black podzol treated with topped gasoil

			acclimation phase*				stationary
							phase#
			-----				-----
							respiration
gasoil	fertilizer	pH					rate
			b(a)	c0(a)	k'	ID	mg/kg/day

a.none	none	4.5	4.53	291	38	0.969	16.7
b.5000 ppm Bachaquero	none	4.5	9.10	443	50	0.990	21.7
c.5000 ppm Bachaquero	N and P	4.5	10.98	1356	111	0.997	26.8
d.5000 ppm Bachaquero	N and P	7.4	13.55	1787	155	0.986	36.3
e.5000 ppm Nigeria	N and P	7.4	13.77	3152	237	0.981	38.3
f.5000 ppm Kuwait	N and P	7.4	37.62	5972	540	0.959	42.8

* Modelled according to an asymmetric S-curve, for symbols see text;
ID - index of determination. # Average oxygen uptake of the soils
20 C) in the period between the 20th and the 40th day after the
addition of amendments.

De hoge correlatie-coefficient (= ID-waardes) geven de hoge betrouw-
baarheid van dit model aan.

Een simpele en recht-toe-recht-aan manier om de ademhalingscurve te
interpreteren is de analyse te beperken tot de stationaire fase. Na de
aanpassingsfase wordt de opnamesnelheid van zuurstof min of meer
konstant, en het overall proces benadert een nulde-orde-kinetiek
(stationaire fase). In bovenstaande tabel is duidelijk te zien welke
invloed de verschillende behandelingen hebben op de biodegradatie.

Wat betreft het West-Europese veldonderzoek worden twee Nederlandse experimenten beschreven.

Met behulp van slechts beluchting van de grond (door regelmatig om te zetten) is getracht het oliegehalte van vervuilde grond omlaag te krijgen (STAPEL, 1984). De olieanalyses geven aan dat het gehalte minerale olie in de grond afneemt van 10 gr olie/kg grond tot ca. 3 gr/kg in een periode van 180 dagen (lente + zomer). Dit komt overeen met een afbraaksnelheid van ongeveer 40 mg olie per kg grond per dag. Er zijn geen gegevens verstrekt over de pH van de grond of de aanwezige nutriënten, deze parameters zijn niet bij dit onderzoek betrokken.

Een andere veldproef, waarin wel gezorgd is voor een optimalisatie van de pH en nutriëntenvoorziening, geeft een iets hogere afbraaksnelheid (GRONTMIJ, concept-rapport, 1985). Na toevoegen van kalk tot pH van ongeveer 7.0 en nutriënten in een verhouding van C:N:P:K = 100:4:0.75:1 (N als kalkammonsalpeter, P als super en K als patentkali) is de proef ingezet. Het voorlopige resultaat is een concentratieafname van 6800 mg olie/kg tot 1200 mg/kg = 5600 mg/kg gedurende 4 (zomer)maanden. Dit komt overeen met een afbraaksnelheid van (minstens) 50 mg olie per kg grond per dag.

2.3 onderzoek in de Verenigde Staten

ATLAS (1984) beschrijft het landfarmingsproces, zoals dat toegepast wordt voor het verwerken van olieslib (= sludgefarming). Ook hier is deze techniek gebaseerd op het vermogen van de mikrobiologische populatie in de bodem koolwaterstoffen te metaboliseren. De bodem kent een aantal milieu-eigen aspecten die het afbraakproces kunnen beïnvloeden:

- * temperatuur. Mikroorganismen groeien in het algemeen het beste bij 30-40 graden Celsius. Uit experimenten met grond verontreinigd met olie blijkt dat boven 20 graden celsius geen verdere stijging van de olie-afbraaksnelheid plaatsvindt.

Een mogelijke verklaring hiervoor is dat vanaf 20 graden de membraantoxiciteit van koolwaterstoffen met een korte keten toeneemt bij stijgende temperatuur. Membraantoxiciteit breidt op als de apolaire koolwaterstoffen de lipide-struktuur van het membraan verstoren.

- * zuurstof en vocht. De eerste afbraakstap van koolwaterstoffen vereist moleculaire zuurstof, dus biodegradatie van olie vereist een goed geaereerde bodem. De mate van aeratie hangt o.a. af van de bodemvochtigheid.

Vocht is essentieel voor een actief bodemleven, maar teveel vocht zorgt voor een slechte zuurstofvoorziening. Aangenomen wordt dat een waterverzadiging van 50-80% van de veldcapaciteit optimaal is voor microbiologische activiteit.

- * de zuurgraad (pH). De bodem-pH bepaald voor een groot deel het type mikroorganisme (bakterie of schimmel) wat bij kan dragen aan koolwaterstofafbraak.

Aangenomen wordt dat de hoogste overall afbraak plaatsvindt onder licht alkalische omstandigheden.

- * anorganische en organische nutriënten. Toevoeging van stikstof- en fosforzouten stimuleert afbraak van olie in grond sterk. Sommige onderzoekers vonden een direkt positief effect, anderen vonden pas na enkele weken of zelfs maanden een stimulerend effect, weer anderen vonden in het geheel geen effect. De factoren die verantwoordelijk zijn voor een verschil in respons van de bodem op mesttoevoeging zijn o.a. de reeds aanwezige stikstofvoorraad in de grond, stikstofbinding en limiterende omstandigheden door andere factoren dan de nutriëntenvoorziening zoals temperatuur, zuurstof, pH en beschikbaarheid van de olie.

Het effect van minerale nutriënten op de afbraaksnelheid varieert, afhankelijk van de toedieningsfrequentie en -hoeveelheid.

Van de petroleumcomponenten zijn de n-alkanen, n-alkylaromaten en aromaten in de C10-C22 range het minst toxisch en het makkelijkst afbreekbaar. In de C5-C9 range hebben deze verbindingen een relatief hoge membraantoxiciteit. Sommige mikroorganismen zijn in staat deze verbindingen te metaboliseren, maar onder veldomstandigheden verdwijnen ze meestal door verdamping. Gasvormige n-alkanen (C1-C4) kunnen worden afgebroken door slechts een kleine groep gespecialiseerde mikroorganismen. n-Alkanen, alkylaromaten en aromaten boven C22 hebben een lage toxiciteit, maar hun fysische eigenschappen als de extreem lage wateroplosbaarheid zorgen voor een hoge

resistentie tegen biodegradatie. Vertakte alkanen en cycloalkanen in de C10-C22 range zijn minder makkelijk af te breken omdat een vertakking de B-oxidatie verhindert en de biodegradatie van cycloalkanen een synergistische samenwerking van mikroorganismen vereist. Bovendien hebben cycloalkanen van C10 en hoger een hoge membraantoxiciteit. Sterk gecondenseerde aromatische en cycloparaffine verbindingen zijn erg resistent tegen biodegradatie evenals gedeeltelijk geoxydeerde en gecondenseerde componenten uit teer, bitumen en asfalt. Het totaalgehalte van deze laatste, zeer resistente verbindingen neemt in sommige experimenten zelfs toe, wat wijst op transformatie van andere frakties naar de asfaltenen. In gronden die herhaaldelijk behandeld zijn met olieafval is de geleidelijke accumulatie van dergelijke koolwaterstoffen waar te nemen.

Het humusgehalte in met olie verontreinigde grond neemt in het algemeen toe, afhankelijk van de verontreinigingsgraad. Verondersteld wordt dat de mikrobiologische biomassa (ontstaan door groei op de olie) gedeeltelijk wordt omgezet in humeuze bestanddelen.

Het optimaliseren van het sludgefarmingsproces kent een aantal gedeeltelijk voor de hand liggende criteria, waaronder veldomstandigheden (vlak i.v.m. erosie, lichte textuur van de grond i.v.m. aeratie, niet boven open aquifers) en klimatologische kenmerken (voldoende lang groeiseizoen, niet teveel neerslag).

Volgens ATLAS is het gebleken dat het afbraakpercentage van de verza- digde fraktie lager wordt bij een hogere olieconcentratie in de grond. Het afbraakpercentage van de aromatische en asfaltene fraktie neemt juist toe als de olieconcentratie hoger wordt. Deze versterkte verwijdering van de meer persistente olieslibcomponenten samen met de wens tot maximaal bodemgebruik leiden tot een toedieningsadvies van 5-10% gew % koolwaterstoffen per gift. De frequentie waarmee een portie olieslib opgebracht kan worden is sterk afhankelijk van het type koolwaterstoffen en de milieuomstandigheden.

In lysimeterkolommen zijn de aspecten van het uitloggen van olie, hun afbraakprodukten en nutrienten onderzocht tijdens

olieslibbiodegradatie (DIBBLE, 1979). Het slib bestaat voor 24 gew % uit koolwaterstoffen. Het experiment is uitgevoerd bij 20 graden Celsius en de pH van de grond is m.b.v. kalk op 7.4 gebracht. Het slib is gemengd met de grond tot een gehalte van 30 gr olie/600 gr grond (= 5 %) De grond is bemest met verschillende N- en P-bronnen in een ratio

van C:N:P:K = 2600:13:1:1. Kalium is toegevoegd omdat dit een standaard meststof is. Er is geen reden aan te nemen dat kalium de afbraak van de koolwaterstoffen stimuleert.

De N-bronnen zijn: Urea (46,7% N)

Urea-paraffin-adduct (26.8% N)

Urea-formaldehyde (38% N)

De P-bronnen zijn: Octylphosphate (26% P2O5)

Triple superphosphate (44% P2O5)

Kalium werd toegevoegd als KCl (60% K). Als controle werden kolommen gevuld met ofwel alleen de meststoffen ofwel alleen het slib.

Periodiek is 200 ml gedestilleerd water doorgeleid.

De volgende analyses werden uitgevoerd: NH₄-bepaling, NO₂- en NO₃-bepaling, PO₄-bepaling, TOC (total organic carbon) en bepaling van het oliegehalte (d.m.v. extractie van de grond met diethylether in het Soxhlet-apparaat en wegen van het residu na verdamping van het oplosmiddel).

De resultaten geven een "worst-case" weer, omdat het zandgehalte in de kolom relatief hoog is (weinig oppervlak, lage CEC). Tabel VII laat zien dat alle gebruikte meststoffen een even hoge afbraak vertonen (ongeveer 20% na 120 dagen, dit betekent een halfwaardetijd van 373 dagen). Er was sprake van slechte aeratie: vaak waterverzadiging en weinig verdamping. Aan de wand van de kolommen werd ijzersulfide geconstateerd wat wijst op reducerende omstandigheden.

tabel VII (naar DIBBLE, 1979)

Effect of mineral nutrient formulations on oil sludge biodegradation*

fertilizer formulation	% biodegradation
urea + superphosphate	21
urea paraffin-adduct + octylphosphate	24
urea formaldehyde + superphosphate	20
control without fertilizer	10

* Thirty grams hydrocarbon per 600 g soil (5 percent wt/wt) incubated for 120 days

De hoogste afbraak van 24 % biodegradatie komt overeen met een afbraaksnelheid van 100 mg olie per kg grond per dag. Het perkolatieewater uit de kolommen bevatte in alle gevallen een significante hoeveelheid stikstof (alleen in ammoniumvorm) behalve in de niet bemeste controle en in de met ureum-formaldehyde bemeste kolom. Nitraat en nitriet werd alleen aangetroffen in het perkolatieewater van de kolommen die wel bemest waren maar waaraan geen slib was toegevoegd. Deze resultaten wijzen op ureum-formaldehyde als beste stikstofbron. Er zijn geen koolwaterstoffen aangetoond in het perkolatieewater. Er wordt geconcludeerd dat landfarming bij goed management geen gevaar oplevert voor de (onderliggende) grondwaterkwaliteit.

In een onderzoek van Imperial Oil Ltd (NORRIS, 1980) zijn drie proefvelden getest op hun geschiktheid olieslibafval van dit bedrijf te verwerken via het landfarmingsproces. De velden zijn aan het begin van elk voorjaar bemest tot een stikstofgehalte van 110 kg/ha. Olie is opgebracht tot een concentratie van 10%, gemengd over een diepte van 15-20 cm. Gedurende de looptijd van het experiment werd de bodem-pH regelmatig gemeten. Als de waarde van de pH onder de 6.5 kwam is bekalkt tot pH 7-7.5. In de onvervuilde grond is het gehalte met CCl₄-extraheerbare stof 0.1 gew-%. Het resultaat is dat meer dan 200 kubieke meter olie per ha per jaar verwerkt kon worden. Dit komt overeen met een afbraaksnelheid van 230 m³ olie per ha per groeiseizoen (ongeveer 6 maanden). Dit is 440 mg olie per kg grond per dag. In het grondwater wordt geen olie of phenol aangetroffen wat de onderzoekers doet concluderen dat de methode van landfarming een milieuvriendelijke methode van olieslibverwerking is.

De gegevens in dit rapport zijn zeer summier zodat het niet mogelijk is de resultaten zelf na te rekenen. Maar de hoge afbraaksnelheden doen vermoeden dat er meer aan de hand moet zijn dan biodegradatie alleen. Bij de erg hoge toedieningen die in dit onderzoek zijn gebruikt, is het goed mogelijk dat een groot deel van de koolwaterstoffen is verdampd i.p.v. biologisch verwijderd.

In een onderzoek van YANG (1981) wordt getest hoe groot het aandeel van verdamping is in de afname van de ruwe-olieconcentratie in de grond. Grond met 10 gew-% olie wordt getest in porties van 55 gr, met als controle een portie ruwe olie zonder grond. In de grond is de

olieafname na 70 dagen 29, 42, 47 en 51% bij 5, 20, 35 en 50 graden Celsius respectievelijk. Een vergelijking met de controle laat een ongeveer gelijke reductie zien ten gevolge van verdamping. Dit geeft aan dat ook de reductie in de grond voor het grootste deel te danken is aan verdamping. Dit wordt bevestigd door een experiment waarin een deel van de grond gesteriliseerd wordt en een ander deel niet. In beide gevallen is de olieafname gedurende de eerste 60 dagen gelijk.

In dit artikel wordt gewaarschuwd voor een klakkeloze toepassing van het landfarmingsproces als verwerkingsmethode voor olie-houdend slibafval omdat sommige van de vluchtige cyclische aromaten bekend staan als potentieel carcinogeen. Natuurlijk speelt verdamping een rol bij het landfarmingsproces, des te meer naarmate de beginconcentratie olie in de grond hoger wordt, maar of het werkelijk in deze mate (volgens de auteur tot 50% in 70 dagen) optreedt dient nader te worden bewezen. Als de afname van de olieconcentratie wordt verklaard aan de hand van biodegradatie zonder dat tegelijkertijd onderzoek is gedaan naar de mate van verdamping worden verkeerde conclusies getrokken. Zo lijkt landfarming een milieuvriendelijke methode terwijl in feite grote hoeveelheden vluchtige oliecomponenten in de lucht worden gebracht.

In een 1280 dagen durend experiment met behulp van simulatie van het landfarmingsproces in het laboratorium is het lot van polycyclische aromaten (PCA's) in de bodem afkomstig van opgebracht olieslib onderzocht (BOSSERT, 1984). Het gebruikte slib bevatte per gram 299 mg met dichloormethaan extraheerbaar materiaal (waarvan 3.6 mg PCA's), 360 mg humusachtig materiaal en 131 mg totaal-N. De gebruikte grond bevatte 17 mg humus/gr, 1.5 mg N/gr en een met behulp van CaCO_3 ingestelde pH van 7.5. De grond is bemest met 60 μmol N als NH_4NO_3 per gr grond en 5 μmol P als K_2HPO_4 per gr. Per toediening is 140 mg slib (is 42 mg koolwaterstoffen) per gr grond opgebracht, in een frequentie van 7 keer in 25 maanden. Daarna volgde een jaar zonder enige behandeling, om zodoende het afsluiten van een landfarm te simuleren.

Uit CO_2 -evolutiemetingen kwam naar voren dat ongeveer de helft van de hoeveelheid afgebroken substraat-C omgezet was in CO_2 -C. De gemiddelde afnamesnelheid van het oliegehalte blijft in de periode na de zeven slibtoedieningen op ongeveer gelijk nivo, dit in tegenstelling tot de scherpe afname in CO_2 -productie.

Hieruit wordt geconcludeerd dat in de gesloten periode de hoofdoorzaak van koolwaterstofafname niet mineralisatie is maar humifikatie, i.e. de omzetting van extraheerbaar materiaal naar humusachtige, niet-extraheerbare organische stof.

Wat betreft de PCA's is een hoge concentratieafname geconstateerd. Er is 3.49 mg PCA's toegevoegd. Na 920 dagen is slechts 0.45 mg (12.9%) over, na de gesloten periode tot 0.42 mg (11.9%). Duidelijk is dat de PCA-resistentie toeneemt met de hoeveelheid ringen. De steriele controle gaf ook een hoge PCA-vermindering tot 48% van de PCA-afname in de biologisch actieve grond. Gesuggereerd wordt dat PCA's na autooxydatie geïncorporeerd worden in humus.

2.4 nabeschouwing

In onderstaande tabel zijn de resultaten van de bovenbeschreven experimenten naast elkaar gezet. Voor zover nog niet door de auteurs zelf berekend, zijn per experiment zowel de afbraaksnelheid (als verondersteld mag worden dat de olieafbraak volgens nulde-orde-kinetiek verloopt) als de halfwaardetijd (als verondersteld mag worden dat de olie-afbraak volgens eerste-orde-kinetiek verloopt) alsnog berekend.

artikel van:	beginconc. olie (mg/kg)	lab/veld	T (C)	mest	afbraak- snelheid (mg/kg. dag)	t 1/2 (dagen)
(Europa)-----						
Borger, de	5000	lab	20	+	130	31
Verstraete	5000	lab	20	+	95	20
GRONTMIJ	7000	veld	ZT	+	50	48
Stapel	10000	veld	ZT	-	40	104
(VS)-----						
Dibble	50000	lab	20	+	100	303
Norris	ca. 80000	veld	ZT	+	440	78
Yang	100000	veld	ZT	+	900	53
Bossert 7*42000-294000		lab	20	+	111	n.v.t.

ZT = zomertemperatuur

n.v.t. = niet van toepassing

Het Europese onderzoek wordt dus vooral verricht aan grond met vrij lage beginconcentraties olie, het Amerikaanse onderzoek wordt verricht aan grond met hogere beginconcentraties olie. Dit hangt samen met de in de inleiding beschreven verschillen tussen de beide toepassingen van het landfarmingsproces.

Wat betreft het laboratoriumonderzoek zijn de gemeten afbraaksnelheden van de olie in beide gebieden in de zelfde orde van grootte, nl. ongeveer 100 mg olie per kg grond per dag.

Maar de olieconcentratie is in alle gevallen hoog geweest, zodat waarschijnlijk steeds de maximale afbraaksnelheid is gemeten.

Een duidelijk verschil bestaat in de resultaten van het veldonderzoek. In de VS zijn de afbraaksnelheden een faktor 10 a 20 hoger dan in West Europa.

Het West-Europese onderzoek betreft verontreinigde grond, waarin de olie al enige tijd aanwezig is in concentraties van 0.7-1.0 %. De totale olieconcentratie is laag, de meeste vluchtige oliekomponenten zijn al verdampt. Echter, in het Amerikaanse onderzoek wordt de olie aan het begin van het experiment opgebracht in concentraties van 8-10%. Wel is er hier meestal sprake van olieafval (vaak zware resten van de raffinage). Omdat in deze onderzoeken zulke hoge afbraaksnelheden worden gemeten, zelfs vele malen hoger dan tijdens geconditioneerde omstandigheden (in het laboratorium) lijkt het waarschijnlijk dat een deel van deze "afbraak" te danken is aan verdamping van de vluchtige oliekomponenten. Het is aan te bevelen hier nader onderzoek naar te verrichten.

Uitgaande van eerste-orde-kinetiek kunnen de respektievelijke halfwaardetijden van afbraak berekend worden. In het Europese onderzoek worden in het veld iets hogere halfwaardetijden gemeten dan in het laboratorium. Wel of niet bemesten heeft een duidelijke invloed op de halfwaardetijd. Het Amerikaanse onderzoek daarentegen geeft erg grote verschillen in halfwaardetijd tussen veld-en laboratorium-omstandigheden.

In de hier beschreven onderzoeken worden veelal slechts de begin- en eindconcentratie olie in de grond vermeld. Alleen een reeks van concentratiebepalingen in de tijd kunnen een beeld geven van de kinetiek van de olieafbraak, daarom kan hier geen uitspraak gedaan worden over de kinetische achtergronden van de afbraak van olie in grond.

Uit deze onderzoeken komt naar voren dat de afbraak van olie in grond door mikroorganismen versneld kan worden door de toepassing van landfarmingstechnieken. Als methode van bodemsanering moet landfarming dan ook als een serieuze mogelijkheid beschouwd worden. Het is raadzaam de risico's van uitspoeling van eventuele schadelijke afbraakprodukten en de mogelijkheden van verdamping van de olie nader te onderzoeken voordat landfarming een algemeen geaccepteerde methode van bodemsanering wordt.

De verwerking van oliehoudend slib (sludgefarming) moet met de nodige scepsis benaderd worden, omdat het nog onduidelijk is of deze methode geen verschuiving is van bodemverontreiniging naar luchtverontreiniging. Bovendien vindt hoe dan ook ophoping van schadelijke verbindingen in de bodem plaats, waaronder zware metalen en zeer persistente oliecomponenten. Dit is een zeer verontrustend aspect van landfarming als olieslibverwerkingsmethode.

2.5 LITERATUUR

- ATLAS R.M., Petroleum Microbiology. Macmillan Publishing Company, New York, 1984, 435-474
- BORGER R de et al, Microbial degradation of oil in surface soil horizons. Rev. Ecol. Biol. Sol 15 (1978), 445-452
- BOSSERT I. et al, Fate of hydrocarbons during oily sludge disposal in soil. Appl. Environ. Microbiol. 47 (1984), 763-767
- DIBBLE J.T. and R. Bartha, Leaching aspects of oil sludge biodegradation in soil. Soil Science 127 (1979), 365-371
- NORRIS D.J., Landspreading of oily and biological sludges in Canada. In: Proc. 35th. Industrial Waste Conf. ,Purdue Univ., Indiana, 1980
- STAPEL C.A.F., Grondbeluchtingsproef ESSO-depot Zwolle, ESSO nederland BV, 1984
- VANLOOCKE R. et al, Soil and groundwater contamination by oil spills; problems and remedies. Int. J. Environ. Studies 8 (1975), 99-111
- VERSTRAETE W. and R. Vanloocke, Modelling of the breakdown and the mobilisation of hydrocarbons in unsaturated soil layers. In: Proc. 3rd. Int. Biodegradation Symp. J.M. Sharpley and A.M. Kaplan (ed.), Appl. Science Publ., London, 1975
- YANG W.F., Landtreatment of oily wastes- reductoin of crude oil in soils. In: Proc. 36th Industrial Waste Conf., Purdue Univ., Indiana, 1981
- Proefproject Landfarming Exp (concept-verslag). GRONTMIJ afd. Geotech-
techniek, Zeist, 1985

3 ICW-PROJEKT: BIOLOGISCHE REINIGING VAN VERVUILDE GROND DOOR MIDDEL VAN 'LANDFARMING'

Het ICW is in 1985 begonnen met een proefprojekt landfarming in samenwerking met de Vuil Afvoer Maatschappij VAM. Het doel van het projekt is:

- ervaring opdoen met de praktische uitvoerbaarheid van het landfarmingsprocede
- de kosten in relatie met het reinigingsresultaat te analyseren
- de methode in relatie met de kosten en milieuhygienische aspecten te evalueren.

Bij gebleken geschiktheid kan de methode worden ingezet voor reiniging van vervuilde grond, die vrij komt bij bodemsaneringsoperaties.

Het onderzoek wordt uitgevoerd op een daarvoor speciaal ingericht terrein bij het afvalverwerkingsbedrijf van de VAM in Wijster. Het terrein, ter grootte van 2000 m² (50 m * 40 m) is verdeeld in twee proefvelden van elk 1000 m². De bodem is ter plaatse afgedicht met folie om grondwaterverontreiniging te voorkomen. Op de folie is een drainagesysteem aangebracht in een 40 cm dikke zandlaag en er zijn voorzieningen getroffen voor opvang en bemonstering van de drain-afvoer. Afhankelijk van de kwaliteit wordt het drainwater afgevoerd naar een zuiveringsinstallatie of worden geloosd op het oppervlakte-water.

Het 'landfarmings'-terrein is opgedeeld in twee proefterreinen zodat twee soorten vervuilde grond kunnen worden behandeld, namelijk zandgrond uit Veenendaal verontreinigd met gasolie en venige grond van de NAM uit Schoonebeek verontreinigd met ruwe olie.

De vervuilde grond is opgebracht in een laag van ongeveer 45 cm dikte. Door de grond te bewerken is de olie zo homogeen mogelijk door de grond verdeeld.

Vervolgens is de grond bemest met stikstof en fosfaat en afhankelijk van de pH is de grond ook bekalkt. De grondbewerking en de bemesting zijn periodiek herhaald, afhankelijk van de weersomstandigheden en de snelheid van het afbraakproces.

Het resultaat van deze biologische reinigingstechniek zal worden beoordeeld aan de hand van de afname van het oliegehalte in frequent (1 keer per 2 a 4 weken) genomen grondmonsters.

De behandeling van de grond wordt beeindigd zodra het oliegehalte is gedaald tot beneden de van overheidswege gestelde normen.

De uitspoeling van oliecomponenten en/of afbraakprodukten wordt onderzocht door het drainwater regelmatig te bemonsteren en te analyseren.

Emissie van vluchtige componenten naar de atmosfeer is niet in het onderzoek opgenomen. Op laboratoriumschaal is wel onderzocht in hoeverre vervluchtiging een rol speelt bij de afbraak van verschillende oliesoorten.

Het hier beschreven onderzoek naar biologische reiniging van vervuilde grond op praktijkschaal sluit aan op eerder onderzoek in het laboratorium, waarbij het effect van bemesting op de afbraak van olie is onderzocht. Bemesting bleek zodanig stimulerend te werken dat onder optimale omstandigheden de afbraak soms een faktor 10 sneller verliep. Daarbij bleek ook dat groundbewerking afgezien van een gunstig effect op de bodemaeratie, ook een herverdeling van de olie in de grond tot gevolg heeft waardoor de kans op uitspoeling van olieprodukten afneemt.

Onder optimale omstandigheden bij 20 C bleek de halfwaardetijd voor huisbrandolie ca. 130 dagen te bedragen. Gezien de lage temperaturen in de winterperiode mag worden verwacht dat onder veldomstandigheden naar schatting 50-75% van de aanwezige olie wordt afgebroken in een tijdsbestek van een jaar.

Het laboratoriumonderzoek heeft uitgewezen dat de afbraak van olieprodukten gepaard gaat met uitspoeling van afbraakprodukten. Aan de hand van UV-spektra is gebleken dat het waarschijnlijk stoffen betreft, die ook van nature in grond voorkomen (mogelijk humusachtige verbindingen). Identifikatie van individuele componenten heeft echter niet plaatsgevonden.

Voor de resultaten van dit projekt wordt verwezen naar de betreffende ICW-nota (nog in voorbereiding).

4 DE AFBRAAK VAN RUWE OLIE EN GASOLIE IN GROND

Als aanvulling op het beschreven ICW-project landfarming is een laboratoriumonderzoek uitgevoerd met de in Wijster gebruikte verontreinigde grond. Het doel van dit onderzoek is het nader analyseren van de processen die een rol spelen bij de biologische afbraak van olie in de bodem.

Het positieve effect van bemesten op de olieafbraak is al meerdere malen aangetoond. In dit experiment wordt onderzocht waar het optimale bemestingsnivo ligt voor de hier gebruikte grond.

Stikstof kan in velerlei vormen aan de grond worden toegevoegd (nitraat, ammonium, ureum, etc.), maar de verschillende vormen zijn niet even makkelijk toegankelijk voor mikroorganismen. Het is daarom zinvol te onderzoeken welke chemische vorm van stikstof resulteert in de beste afbraak van de olie.

In dit hoofdstuk wordt een potproef beschreven waarbij gebruik is gemaakt van de grond van de twee proefvelden uit Wijster.

4.1 monsternamen en voorbehandeling van de verontreinigde grond

In het voorjaar van 1985 is m.b.v. een Edelmanboor een mengmonster samengesteld, door aselekt ongeveer 20 monsters per proefveld te steken. De met ruwe olie verontreinigde grond is venig van structuur en heeft een pH van 6.9. De met gasolie verontreinigde grond is zandig en heeft een pH van 5.4, welke te laag is voor optimale afbraak van de olie. Daarom is deze grond bekalkt tot ongeveer neutrale pH.

De mengmonsters zijn steeds binnen een week verwerkt en gedurende die tijd bewaard bij kamertemperatuur.

Alvorens de potten te vullen, zijn porties van 2 1/2 kg grond per pot volgens onderstaand schema bemest:

POTNR.	RUWE OLIE						GASOLIE				
	1	2	3	4	5		6	7	8	9	10
NaNO ₃ -N (ppm)	---	250	500	---	---		---	250	500	---	---
NH ₄ NO ₃ -N (ppm)	---	---	---	250	500		---	---	---	250	500
P205 (ppm)	---	150	300	150	300		---	150	300	150	300

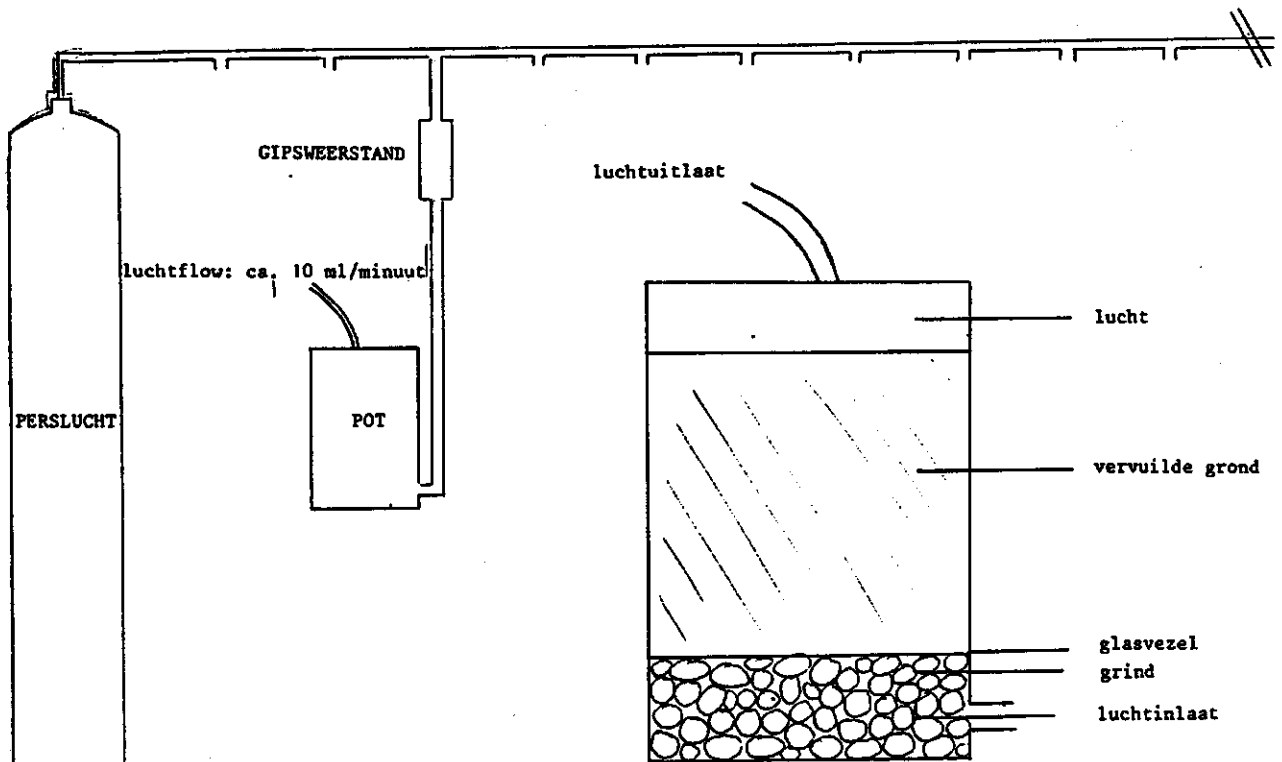
Fosfor is toegevoegd in de vorm $K_2HPO_4:KH_2PO_4 = 2:1$.

Het nivo van 250 en 500 ppm stikstof is gebaseerd op gegevens over de olieconcentratie bij aanvang van het experiment. Deze gegevens zijn niet zelf bepaald, maar opgegeven door de leveranciers van de vervuilde grond. Zij hebben het oliegehalte van de grond geschat op ongeveer 30 g/kg. Uitgaande van een C:N-ratio van 10 voor een optimale stikstofvoorziening in de grond betekent dit een stikstofgift van 3000 ppm N. Omdat een dergelijke hoge gift resulteert in een veel te hoge concentratie zouten in de bodemoplossing is gekozen voor een ongeveer tien keer zo lage gift. Eventueel kan dan gedurende de looptijd van het experiment nogmaals een stikstofgift worden toegediend.

Na deze behandelingen zijn de potten gevuld, en aangesloten op een leidingensysteem wat zorgt voor een regelmatige luchtflow door de potten van ongeveer 10 ml lucht per minuut (zie tekening).

Er is gewerkt bij een temperatuur van 20 graden Celsius.

PROEFOPSTELLING



Het zuurstofgehalte van de uitstromende lucht is 3 a 4 keer per week gemeten met een zuurstofmeter. De exakte flow is gemeten m.b.v. een zeepbelflowmeter (speciaal voor hele lage stroomsnelheden).

De met ruwe olie verontreinigde grond is na 28 dagen (1 maand) bemonsterd door ongeveer 100 gr grond uit de potten te verwijderen. Na 52 dagen (1.5 maanden) is de grond opnieuw bemest (volgens schema) en doorgeroerd. Na 96 dagen (3 maanden) is het experiment gestopt.

De met gasolie verontreinigde grond is na 55 dagen (1.5 maanden) gemonsterd en opnieuw bemest. Na 98 dagen (3 maanden) is het experiment gestopt.

De gemonsterde grond is geanalyseerd op oliegehalte. In een waterextrakt van de grond zijn de TOC (total organic carbon), de ammonium- en de nitraatconcentratie bepaald. Tevens is het vochtgehalte van de grond gemeten. Voor de gevolgde werkwijze wordt verwezen naar bijlage 5.

4.2 potproef: met ruwe olie verontreinigde grond

4.2.1 resultaten

tabel 1: De invloed van bemesting op de afbraak van ruwe olie in grond (7900 mg/kg) bij 20 graden celsius. De bemesting is in twee porties uitgevoerd, nl. op t =0 mnd en t = 1.5 mnd

N-bemestng (totaal)		P-bemesting	oliegehalte		zuurstofverbruik		
					(cumulatief)		
NH4-N	NO3-N	P2O5					
mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg		gr O2/kg		
			t=1	t=3	t=1	t=1.5	t=3
1	0	0	3000	2600	3.3	5.4	N.G.#
2	0	500	700	1100	9.8	12.3	15.6
3	0	1000	800	900	9.2	11.8	15.2
4	250	250	400	400	9.9	11.8	14.8
5	500	500	700	600	8.9	10.7	14.6

tabel 2: Analyseresultaten van de waterextracten van de verontreinigde grond

TOC			NO3-N		NH4-N		
t=0 mnd	t=1 mnd	t=3 mnd	t=1 mnd	t=3 mnd	t=1 mnd	t=3 mnd	
1	N.G.	129	144	0	0	5.5	2.7
2	N.G.	166	167	41	413	6.6	1.5
3	N.G.	153	145	260	>450	6.1	2.3
4	N.G.	125	81	45	402	7.4	2.3
5	N.G.	125	83	278	>450	25.5	38.2

N.G. staat voor Niet Gemeten

Zoals is te zien in fig. 1 bestaat er geen verschil in zuurstof-verbruik tussen de vier bemeste grondmonsters.

Na een maand is ongeveer 9.5 gr zuurstof per kg grond verbruikt, na drie maanden 15 gr/kg.

De grafiek laat voor de bemeste grond een curve zien die vrij steil begint, maar gestaag afneemt tot een flauw stijgende lijn. De niet-bemeste grond blijft qua zuurstofkonsumptie duidelijk achter bij de bemeste grond, de curve is lineair stijgend.

Na afloop van het experiment is het oliegehalte van de grond in de vier bemeste grondmonsters op gelijk nivo, namelijk ongeveer 0.7 gr olie/kg grond (zie tabel 1). Het vochtgehalte is nauwelijks gedaald.

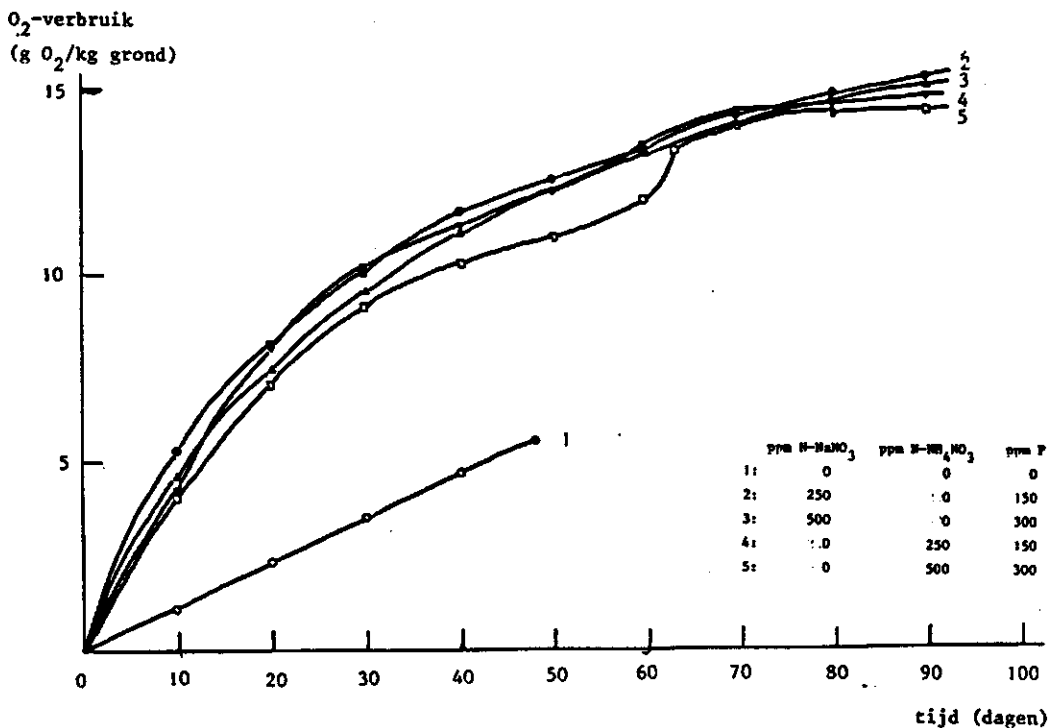


fig. 1 de invloed van bemesting met N en P op de zuurstofkonsumptie van met ruwe olie verontreinigde grond

Als een eerste-orde-kinetiek wordt aangenomen voor de olieafbraak kan met behulp van de gegevens van het oliegehalte de halfwaardetijd ($t_{1/2}$) berekend worden:

Eerste-orde-afbraak: $dc/dt = -kc$ (k is afbraakconstante)

$$dc/c = -k dt$$

$$\ln c = -kt + \text{constante}$$

Als $t = 0$ dan $c = c_0$

$$\ln c = -kt + \ln c_0$$

$$\ln (c/c_0) = -kt$$

$$c/c_0 = \exp (-kt)$$

$$c = c_0 * \exp (-kt)$$

$$t = 0: c = c_0 = 7900 \text{ gr/kg}$$

$$t = 1: c = 700 \text{ gr/kg}$$

$$\text{dus } k = 2.42 \text{ mnd}^{-1}$$

Als $c = 1/2 c_0$ dan $t = t_{1/2} \rightarrow$

$$t_{1/2} = \ln 2/k = 0.29 \text{ mnd} = 8.6 \text{ dgn}$$

Uit de gegevens van tabel 1 blijkt dat in de met NaNO_3 bemeste grond de concentratie organisch gebonden koolstof (= TOC) in een waterextract hoger is in vergelijking met de onbemeste grond. In de met NH_4NO_3 bemeste grond wordt juist een lager gehalte gevonden.

In de onbemeste grond is geen nitraat aangetroffen. In de wel bemeste grond is het nitraatgehalte duidelijk afgenomen t.o.v. de beginconcentratie.

In bijna alle grond (zowel on- als bemest) kan weinig ammonium worden teruggevonden. Een uitzondering hierop is grondmonster 5 (hoogste ammoniumgift). Hier kan na drie maanden zo'n 10% ammonium worden teruggevonden als NH_4NO_3 .

Met behulp van bovenstaande gegevens kan een stikstofbalans worden opgesteld voor de looptijd van het experiment (3 maanden).

stikstofbalans

	NO3-N [mg/kg]	NH4-N [mg/kg]	SOM [mg/kg]
pot 2			
toegevoegd:	500	---	500
teruggevonden:	413	1.5	414.5
netto vastgelegd:	+ 87	-1.5	+ 85.5
pot 3			
toegevoegd:	1000	---	1000
teruggevonden:	>450	2.3	>452.3
netto vastgelegd:	<+550	-2.3	<+547.7
pot 4			
toegevoegd:	250	250	500
teruggevonden:	402	2.3	404.3
netto vastgelegd:	-152	+ 247.7	+ 95.7
pot 5			
toegevoegd:	500	500	1000
teruggevonden:	>450	38.2	>488.2
netto vastgelegd:	<+ 50	461.8	<+511.8

Omdat de nitraatconcentratie aan het eind van het experiment in grond 3 en 5 erg hoog bleek, is het exakte gehalte niet bekend. Daarom is het moeilijk konklusies te trekken over deze resultaten. Wat betreft grond 2 en 4 kan gesteld worden dat ongeveer 90 ppm stikstof "verdwenen" is, i.e. omgezet is in een niet-wateroplosbare vorm. Aan de hand van de olieextrakties kan een schatting gemaakt worden van de hoeveelheid olie die is afgebroken: ca. 7100 ppm. Dit komt overeen met 6050 ppm C. Bij een verbruik van 90 mg N/kg grond kan ca. 900 mg bakteriemateriaal worden opgebouwd (bacterien bevatten ca. 10% stikstof). Dit bakteriemateriaal bestaat voor ca. 50% uit koolstof, dus in dit geval wordt ca. 450 mg C gebruikt voor celopbouw. Dit betekent dan dat 6050 - 450 = 5600 ppm C is veranderd tot CO₂. Hiervoor is bij volledige afbraak van de olie 14.9 g zuurstof per kg grond nodig.

In tabel 1 kunnen twee fasen onderscheiden worden:

A : de eerste fase van $t = 0$ tot $t = 1$, gekenmerkt door

- sterke afname van de olieconcentratie
- bij bemesten met NaNO_3 vrij hoge TOC
- hoge zuurstofconsumptie
- afname ammonium- en nitraatconcentratie in het waterextract
(stikstofimmobilisatie)

B : de tweede fase van $t = 1$ tot $t = 3$, gekenmerkt door

- (bijna) geen afname van de olieconcentratie
- bij bemesten met NaNO_3 nog steeds vrij hoge TOC
- lage zuurstofkonsumptie
- in de bemeste grond een toename of zeer geringe afname van de nitraatconcentratie in het waterextract
(stikstofmineralisatie)
- afname ammoniumconcentratie in het waterextract

ad A

Deze fase kan gekarakteriseerd worden als de exponentiele groeifase van de olieafbrekende mikroorganismen. Er wordt bakteriemateriaal opgebouwd uit de koolstof van de olie en de stikstof van de nutrienten. Energie hiervoor wordt verkregen door koolstof van de olie te verademen, dus met behulp van zuurstof om te zetten in CO_2 en H_2O . Bij aanvang van het experiment is aan de grond in pot 2 en 4 250 mg stikstof per kg toegevoegd. Na 1 maand wordt ongeveer 50 mg N/kg grond teruggevonden (zie tabel 2). In fase A wordt dus ca. 200 mg stikstof verbruikt. Hiermee kan 2000 mg bakteriemateriaal/kg worden opgebouwd. Bakterien bestaan voor ongeveer 50% uit koolstof. Er is dus 1000 mg C per kg nodig geweest. Bij een totale afname van 6050 mg C/kg grond (zie tabel 1) betekent dit dat $6050 - 1000 = 5050$ mg C op een andere wijze is veranderd van een extraheerbare naar een niet-extraheerbare vorm. Als sprake is van een volledige omzetting tot CO_2 kan berekend worden dat dan 13.5 gr zuurstof per kg grond nodig is.

ad B

In deze fase vindt geen significante olieafbraak meer plaats (stationaire fase). Toch wordt zuurstof gekonsumeerd, zij het in kleine hoeveelheden. Tevens neemt de totale hoeveelheid stikstof toe, wat duidt op de afbraak van N-bevattende verbindingen (mineralisatie). In deze fase komt 110 mg N/kg grond vrij (zie stikstofbalans: In fase A wordt ca. 200 mg stikstof vastgelegd, na 3 maanden is nog ca. 90 mg vastgelegd, dus in fase B komt 110 mg N/kg grond vrij). Dit komt overeen met 550 mg C/kg grond. Bij volledige omzetting tot CO_2 is hiervoor 1.5 gr zuurstof per kg grond nodig.

De chromatogrammen (zie bijlage 2) zijn niet op schaal, maar laten wel zien dat vooral de laag kokende componenten zijn verdwenen na drie maanden. Maar ook de hoogkokende componenten zijn in concentratie verminderd, want de oppervlaktes van de pieken komen voor $t=0$ en $t=3$ overeen met respectievelijk 7.9 g/kg en 0.7 g/kg.

4.2.2 konklusies en diskussie

Bemesten met anorganisch gebonden stikstof heeft een positief effect op de afbraak van ruwe olie in grond. Zowel de twee gebruikte nivo's als de twee gebruikte chemische vormen van stikstof geven eenzelfde afbraakresultaat. Een N-gift van 250 mg N/kg grond is dus voldoende voor deze situatie.

De geschatte hoeveelheden zuurstof, nodig voor de afbraak van olie in fase A en de afbraak van biomassa in fase B zijn redelijk in overeenstemming met de gemeten waardes (fase A: 12.3 gr O_2 /kg, fase B: 3.3 gr O_2 /kg maximaal). Het feit dat in fase A minder zuurstof is gemeten en in fase B meer, kan erop wijzen dat de scheidingslijn tussen de twee fases niet korrekt is getrokken. Over het geheel genomen wijzen de resultaten in de richting van volledige afbraak van de olie. De eerder vermelde aannames worden ook bevestigd: in de eerste fase wordt bacteriemateriaal opgebouwd, terwijl de olie vrijwel volledig wordt afgebroken. Er vindt immobilisatie van stikstof plaats. Daarna volgt een fase waarin de overmaat biomassa wordt gemineraliseerd. Dit is een zogenaamd na-effect ten gevolge van een olieverontreiniging.

Tijdens de tweede fase van het experiment is de olieconcentratie in alle grondmonsters erg laag, waarbij in de met $NaNO_3$ bemeste grond de olieconcentratie na afloop iets hoger dan in de met NH_4NO_3 bemeste grond. Dit verschil is echter zo klein dat niet duidelijk is geworden of tussen de beide stikstofbronnen verschil in olieafbraak bestaat.

Niet alleen de hoeveelheid olie, maar ook de samenstelling van de olie is veranderd, vooral de moeilijk afbreekbare, hoogkokende componenten zijn nog aanwezig in de grond.

Het gehalte ruwe olie in deze grond is na een maand van het experiment gedaald tot onder de B-norm (1 g olie/kg grond) zoals deze wordt genoemd in de toetsingstabellen van de Interimwet Bodemsanering

van het ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer. Volgens deze normen kan de grond dus als redelijk schoon worden aangemerkt.

De halfwaardetijd in dit experiment is berekend op 8.6 dagen. De afbraaksnelheid berekend voor de eerste maand bedraagt 240 mg/kg/dag. Als echter bij de berekening van de afbraaksnelheid de gehele periode van drie maanden wordt genomen is dit 80 mg/kg/dag. Een vergelijking met de literatuurwaardes laat zien dat volgens een eerste-orde-kinetiek de afbraak erg snel verloopt. Maar omdat slechts met twee meetpunten is gerekend is dit geen betrouwbare waarde.

De afbraaksnelheid over de gehele periode (80 mg/kg/dag) is van dezelfde orde van grootte als in de literatuur wordt vermeld. Dit kan erop wijzen dat in de literatuur de afbraaksnelheid wordt berekend over zowel fase A als fase B. Maar in fase B vindt een proces plaats dieniet noodzakelijkerwijs gestimuleerd hoeft te worden, de olie is dan immers al afgebroken. Dit kan er dus op wijzen dat een landfarm eerder gesloten kan worden dan tot nu toe werd aangenomen.

4.3 potproef: met gasolie verontreinigde grond

4.3.1 r e s u l t a t e n

tabel 3: De invloed van bemesting op de afbraak van gasolie in grond (1800 mg/kg) bij 20 graden celsius. De bemesting is in twee porties uitgevoerd, nl. op t = 0 mnd en t = 1.5 mnd

N-bemesting (totaal)		P-bemesting		oliegehalte		zuurstofverbruik		
						(cumulatief)		
NH4-N	NO3-N	P2O5						
mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg			gr O2/kg		
			t=1.5	t=3		t=1	t=1.5	t=3
6	0	0	0	800	500	3.4	5.3	N.G.#
7	0	500	300	200	200	7.1	8.7	9.5
8	0	1000	600	1100	900	3.8	4.7	5.3
9	250	250	300	200	300	8.2	10.9	12.3
10	500	500	600	600	400	5.3	6.9	8.5

tabel 4: Analyseresultaten van de waterextrakten van de verontreinigde grond

TOC			NO3-N			NH4-N		
mg C/kg			mg/kg			mg/kg		
t=0 mnd	t=1.5 mnd	t=3 mnd	t=1.5 mnd	t=3 mnd	t=1.5 mnd	t=3 mnd		
6	62	30	27	1.1	0.0	2.5	1.1	
7	62	32	43	N.G.	20	3.7	3.7	
8	62	67	66	63	>450	21.8	7.6	
9	62	29	26	366	>450	6.4	3.7	
10	62	41	29	429	>450	136	163	

N.G. staat voor Niet Gemeten

In grafiek 2 is te zien dat er duidelijke verschillen bestaan tussen de zuurstofconsumptie van de vier bemeste grondmonsters.

In volgorde van hoge naar lage zuurstofconsumptie is dit: lage NH_4NO_3 -gift, lage NaNO_3 -gift, hoge NH_4NO_3 -gift, hoge NaNO_3 -gift.

Deze laatste snijdt zelfs de curve van de onbemeste grond!

Wordt dit vergeleken met de resultaten van de olieanalyses dan blijkt inderdaad dat in de grond met een lage stikstofgift minder olie teruggevonden wordt dan in de grond met een hoge gift. Bij de hoge NaNO_3 -gift is een hogere olieconcentratie aangetroffen dan in de onbemeste grond.

De afname van de olieconcentratie in de onbemeste grond is ook aanzienlijk en heeft voornamelijk plaatsgevonden tijdens de eerste anderhalve maand.

De TOC neemt in bijna alle grond af, behalve in de (slechtafbrekende) grond met hoge NaNO_3 -gift, daar blijft zij ongeveer konstant.

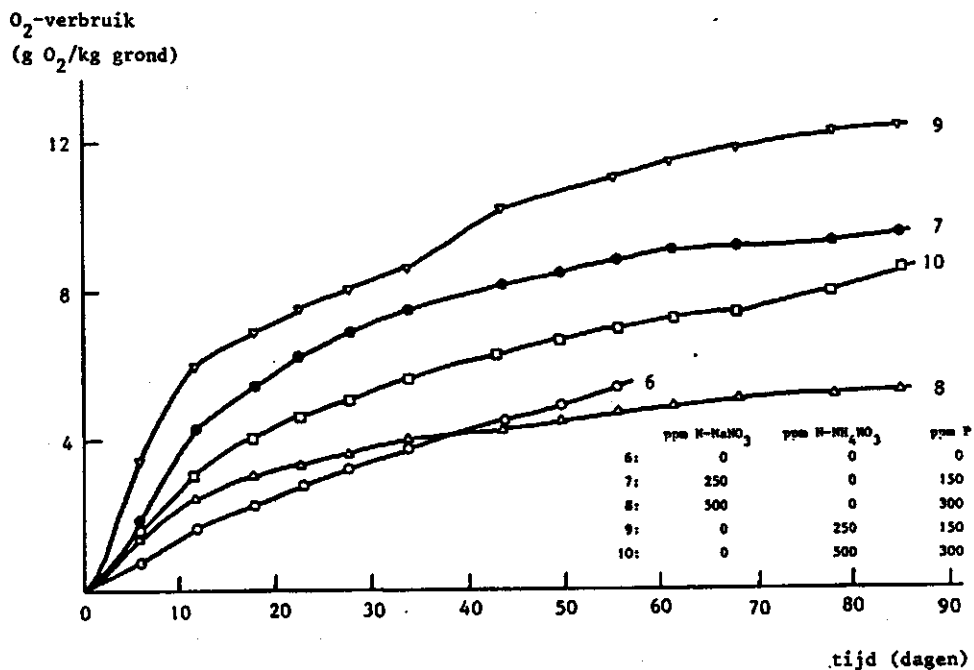


fig. 2 de invloed van bemesting met N en P op de zuurstofconsumptie van met gasolie verontreinigde grond

Met behulp van de gegevens van de olieanalyses kan, als eerste-orde-kinetiek wordt verondersteld, de halfwaardetijd van de olieafbraak worden berekend:

conc op	pot 7	pot 8	pot 9	pot 10
t = 0	1.8	1.8	1.8	1.8
t = 1	0.2	1.1	0.2	0.6
halfwaardetijd				
t _{1/2} (mnd)	0.32	1.41	0.32	0.63
t _{1/2} (dgn)	10	45	10	20

De resultaten van de NO₃- en NH₄-analyses geven aan dat een significante hoeveelheid stikstof aanwezig moet zijn geweest bij aanvang van het experiment. De afbraak in de onbemeste grond is aanzienlijk, en verschilt nauwelijks van de bemeste grondmonsters. Bovendien wordt in het waterextract van de onbemeste grond nog nitraat en ammonium teruggevonden. Omdat het nitraat- en ammoniumgehalte bij aanvang niet is bepaald kan geen stikstofbalans worden opgesteld.

De theoretische zuurstofbehoefte van 1.8 - 0.2 = 1.6 gr olie is, uitgaande van hexadecaan als voornaamste komponent, maximaal 5.55 gr zuurstof bij volledige omzetting tot CO₂ en H₂O. In dit experiment is een maximum van 12.3 g O₂/kg grond gemeten.

4.3.2 konklusies en diskussie

Als belangrijkste konklusie kan gesteld worden dat, evenals in de met ruwe olie verontreinigde grond, het gehalte gasolie in de grond onder de B-norm (1000 mg olie per kg grond) is gekomen.

In dit experiment heeft de hoge stikstofgift in beide toedieningsvormen (NaNO₃ en NH₄NO₃) en remmend effect gehad op de afbraak.

Een C/N ratio van 10 wordt aangenomen noodzakelijk te zijn voor optimale groei van een bacteriepopulatie op olie. Als dus 1600 mg olie afgebroken moet worden is hiervoor 160 mg N nodig (nogmaals: 1600 mg olie-C is beschikbaar, hiervan wordt 800 mg omgezet in CO₂, en 800 mg wordt gebruikt om 1600 mg bacteriemateriaal op te bouwen.

Bakteriemateriaal bestaat voor ongeveer 10% uit stikstof, dus is 160 mg stikstof nodig). In dit experiment is gewerkt met stikstofnivo's van 250 en 500 mg N/kg grond. Blijkbaar heeft een overschrijding van de maximaal benodigde concentratie nutriënten hier een negatief effect op de afbraak van gasolie. Uit dit experiment komt een duidelijke voorkeur voor ammoniumnitraat als meststof naar voren.

De gemeten zuurstofconsumptie van $8 \frac{1}{2}$ - $12 \frac{1}{2}$ g O_2 /kg grond is een factor 2.5 hoger dan verwacht a.d.h.v. de berekening van het maximaal mogelijke zuurstofverbruik. Dit betekent dat er een andere koolstofbron in de grond aanwezig moet zijn geweest, daar het anders niet te verklaren is waarom zoveel zuurstof is verbruikt. Hierbij valt te denken aan reeds aanwezige biomassa als gevolg van olieafbraak voor het tijdstip van bemonsteren.

De halfwaardetijd is berekend op minimaal 10 dagen, de afbraaksnelheid bedraagt maximaal 36 mg/kg/dag. Deze waarden zijn beide erg extreem in vergelijking met de literatuur. In dit experiment is waarschijnlijk de hoeveelheid niet-extraheerbaar koolstof te groot geweest om dergelijke berekeningen te mogen uitvoeren.

5 DE ZUURSTOFKONSUMPTIE VAN MET GASOLIE VERONTREINIGDE GROND

Om de resultaten van de gasolie-potproef beter te kunnen onderbouwen is een experiment met de sapromat ingezet. Met een sapromat kan de zuurstofkonsumptie van water of grond in een gesloten systeem worden gemeten (zie bijlage 1). In het vorige hoofdstuk is beschreven dat een te hoge mestgift remmend werkt op de afbraak van olie. Het doel van dit experiment is te onderzoeken waar het optimum bemestingsnivo ligt voor de afbraak van gasolie in grond.

5.1 materialen en methode

De grond is gemonsterd in Wijster, waarna is bemest met stikstof (in de vorm van NH_4NO_3) en fosfaat (in de vorm van $\text{KH}_2\text{PO}_4:\text{K}_2\text{HPO}_4 = 2:1$) in een range van 0 tot 400 mg N/kg grond, in stappen van 100 mg/kg. De pH van de grond is met CaCO_3 op 7.3 gebracht.

Na twee weken bleek het zuurstofverbruik in de vaatjes erg laag te zijn, m.a.w. er vond erg weinig afbraak plaats. Om de afbraak van de gasolie te stimuleren is de grond in de vaatjes geroerd.

Toen na nog eens twee weken nog steeds geen duidelijke toename in het zuurstofverbruik was te zien, is besloten het experiment te stoppen. Inmiddels was ook bekend geworden dat de olieconcentratie in de met gasolie verontreinigde grond ten tijde van de monsternamen in het veld al onder de 1000 ppm olie gekomen was.

Om toch iets te kunnen zeggen over de invloed van het bemestingsnivo op de afbraaksnelheid van een lichte olie is extra olie (HBO I) druppelsgewijs toegevoegd aan de grond tot een concentratie van 4 gr olie/kg grond. Hierna is de grond geroerd. Dit experiment is na vier weken beëindigd.

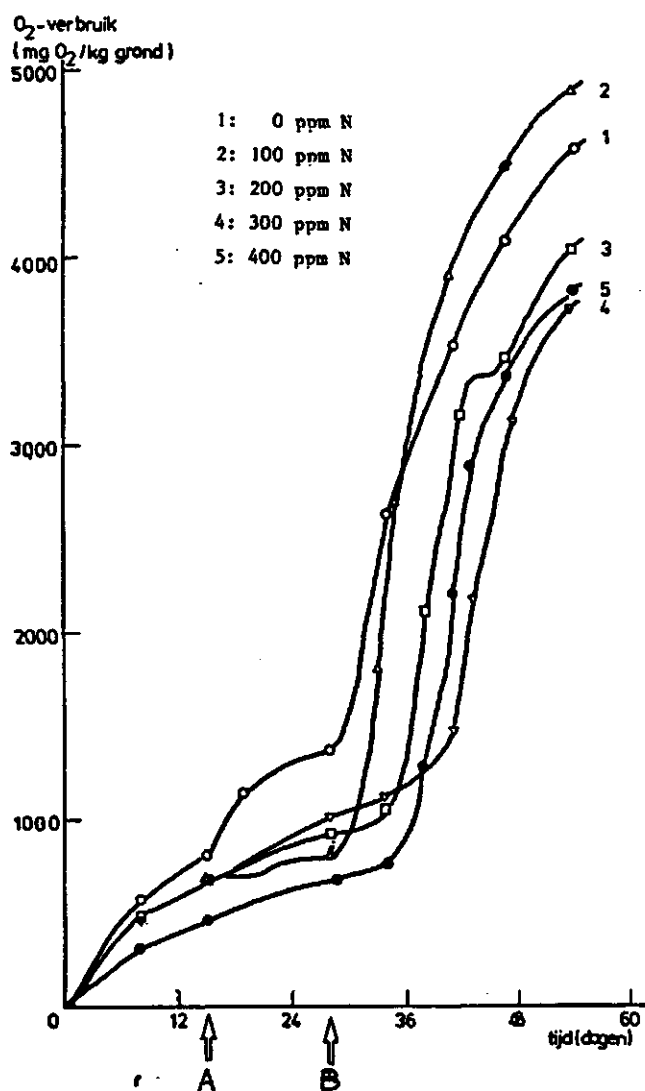
5.2 resultaten

De zuurstofkonsumptie van de "Wijster-gasolie"-grond is erg laag. Hierbij is het opvallend dat de onbemeste grond het meeste zuurstof verbruikt en als enige reageert op het roeren. Na een zuurstofkonsumptie van 1380 mg O_2 /kg grond is, uitgaande van volledige olieafbraak, 0.4 gr olie/kg grond afgebroken (theoretisch 24.5 mol O_2 per mol hexadecaan). Uit figuur 3 wordt duidelijk dat er geen exponentiele groeifase is geweest.

Na toevoeging van verse huisbrandolie neemt de zuurstofconsumptie sterk toe. Om de resultaten onderling te kunnen vergelijken zijn de curves opnieuw getekend met $t=28$ dagen als nieuw nulpunt (fig. 4). In deze grafiek is een duidelijk verschil in adaptatietijd te zien tussen de verschillende grondmonsters.

De adaptatietijd neemt toe in de reeks 0, 100, 200, 400, 300 ppm N. Na de periode van adaptatie aan het substraat treedt een exponentiele groeifase op.

De maximaal gemeten zuurstofconsumptie van 4000 mg O_2 per kg grond komt theoretisch overeen met een verbruik van 1.15 gr hexadecaan per kg grond.



A: de grond is geroerd

B: toediening van huisbrandolie (4 g/kg grond)

fig 3. het verloop van de zuurstofconsumptie van met olie verontreinigde grond als functie van de tijd:
van $t=0$ tot $t=28$ dagen: met gasolie verontreinigde grond
van $t=28$ tot $t=54$ dagen: na toediening van huisbrandolie (4 g/kg grond)

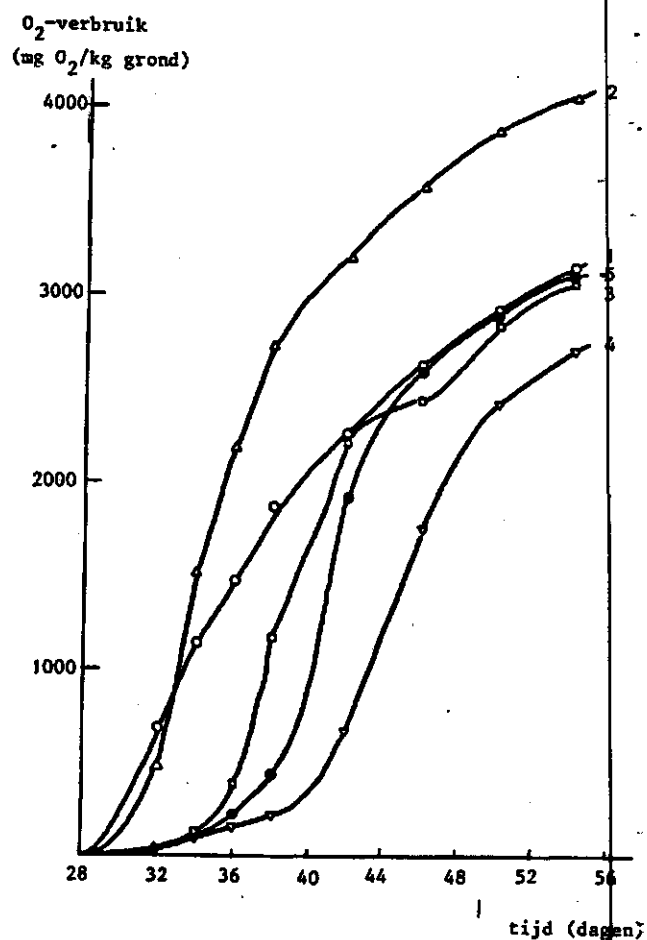


fig 4. het verloop van de zuurstofconsumptie van met huisbrandolie verontreinigde grond als functie van de tijd

Omdat bacterien tijdens hun groei op dit substraat ongeveer evenveel hexadecaan gebruiken voor de opbouw van celmateriaal, is dus 2.3 gr olie per kg grond afgebroken. Dit is 58% van de totaal toegevoegde hoeveelheid olie (4 gr/kg).

5.3 konklusies en diskussie

Gezien de lage zuurstofkonsumptie in de eerste vier weken van het experiment, is in deze periode sprake geweest van gebrek aan substraat. De onbemeste grond geeft de hoogste zuurstofkonsumptie, er is dus al een aanzienlijke stikstofvoorraad in de grond aanwezig geweest. Na afloop van dit experiment werd overigens pas duidelijk dat het proefveld in Wijster al voor de monsternamen was bemest. Dit verklaart de remmende werking van alle nutriënteniveaus op de afbraak (allen boven het optimum niveau). Bovendien, omdat de zuurstofkonsumptie een lineair verloop heeft, is eigenlijk geen stikstof nodig geweest. Immers, deze lineariteit duidt op een konstant blijven van de hoeveelheid biomassa.

Na toevoeging van verse huisbrandolie neemt de activiteit in de grond toe, waarbij de hoogste zuurstofkonsumptie is gemeten in de grond met 100 mg N/kg. Maar ook dit verschil kan het gevolg zijn van de reeds aanwezige stikstofvoorraad in de bodem. Omdat het begingehalte stikstof niet is gemeten, kan geen concreet bemestingsadvies worden gegeven.

Het is waarschijnlijk dat het verschil in adaptatietijd na toevoegen van 4 g huisbrandolie per kg grond gerelateerd is aan de bakteriologische activiteit in de grond gedurende de periode voor toevoegen. Deze redenatie gaat op voor de onbemeste grond, welke de hoogste activiteit kent voor het toedienen, en de kortste adaptatietijd laat zien. Maar voor de bemeste gronden is deze relatie niet eenduidig. Blijkbaar spelen ook andere factoren een rol bij de adaptatie van een bacteriepopulatie aan een gegeven substraat.

- Aannames als - volledige afbraak van de olie
- hexadecaan is de belangrijkste oliekomponent
- CO₂-koolstof:cel-koolstof = 1:1

hebben geleid tot een berekend afbraakpercentage van 58%.

Afbraakremmende factoren als vochtvoorziening of beschikbaarheid van de olie kunnen verantwoordelijk zijn voor dit lage percentage.

6 DE ZUURSTOFKONSUMPTIE VAN ZUIVERE OLIEKOMPONENTEN IN GROND

Met dit experiment is getracht een indruk te krijgen van het gedrag van enkele oliecomponenten in grond. De centrale vraag is: Wat is de onderlinge afbraaksnelheid van de oliecomponenten, wat is de adaptatietijd van de mikroorganismen aan het substraat, en wat kan gezegd worden over de mate van afbraak van de verbinding.

6.1 materialen en methode

Het uitgangsmateriaal is Sinderhoevezand. Deze grond is vaker gebruikt zodat een aantal eigenschappen al bekend zijn.

De pH van de grond is met kalk op 7.2 gebracht. De grond is bemest met 285.7 mg NH_4NO_3 /kg grond, 63.6 mg KH_2PO_4 /kg grond en 102.7 mg K_2HPO_4 /kg grond (C:N:P = 100:23:10).

Omdat oliecomponenten in pure vorm al snel toxisch kunnen zijn is gewerkt met vrij lage concentraties. Om nog wel met meetbare hoeveelheden te werken (de grond wordt na afloop van het experiment geanalyseerd op componentgehalte) is gekozen voor een concentratie van ca. 1 gr component per kg grond. De componenten zijn gekozen n.a.v. de fraktionele samenstelling van olie, nl. twee alkanen (verzadigde fraktie) en twee aromaten (aromatische fraktie). De volgende componenten zijn gebruikt: hexadecaan (77 mg/kg)

tetradecaan (76 mg/kg)

ortho-xyleen (88 mg/kg)

anthraceen (100 mg/kg)

De vaatjes zijn gevuld met 100 gr grond. Na toevoegen van de component (als vloeibaar dan gedruppeld, als vaste stof dan in poedervorm) is de grond geroerd en zijn de vaatjes op het systeem aangesloten. Er is gewerkt bij 20 graden celsius. Na 27 dagen is het componentgehalte in de grond bepaald door de grond te extraheren met hexaan in een zgn. Soxhlet-apparaat. Na indampen van het extract is 20 μl ingespoten in de gaschromatograaf. Het componentgehalte is berekend door het piekoppervlak te relateren aan een standaardoplossing (zie bijlage 5).

6.2 resultaten

Het zuurstofverbruik in de vaatjes (zie fig 5) laat zien dat de beide n-alkanen slechts een adaptatietijd van een dag vereisen. Na een korte periode van exponentiële toename van het zuurstofverbruik (ongeveer een dag) neemt het zuurstofverbruik langzaam af totdat na ca. 10 dagen een lineair verband bestaat tussen de zuurstofkonsumptie en de tijd.

De beide aromaten verlangen een veel langere adaptatietijd; anthraceen ca. 12 dagen, o-xyleen ca. 18 dagen. Hierna ontstaat een S-vormige curve welke uiteindelijk overgaat in een lineair stijgende lijn. Na 27 dagen is het zuurstofverbruik in alle grondmonsters van gelijke orde van grootte.

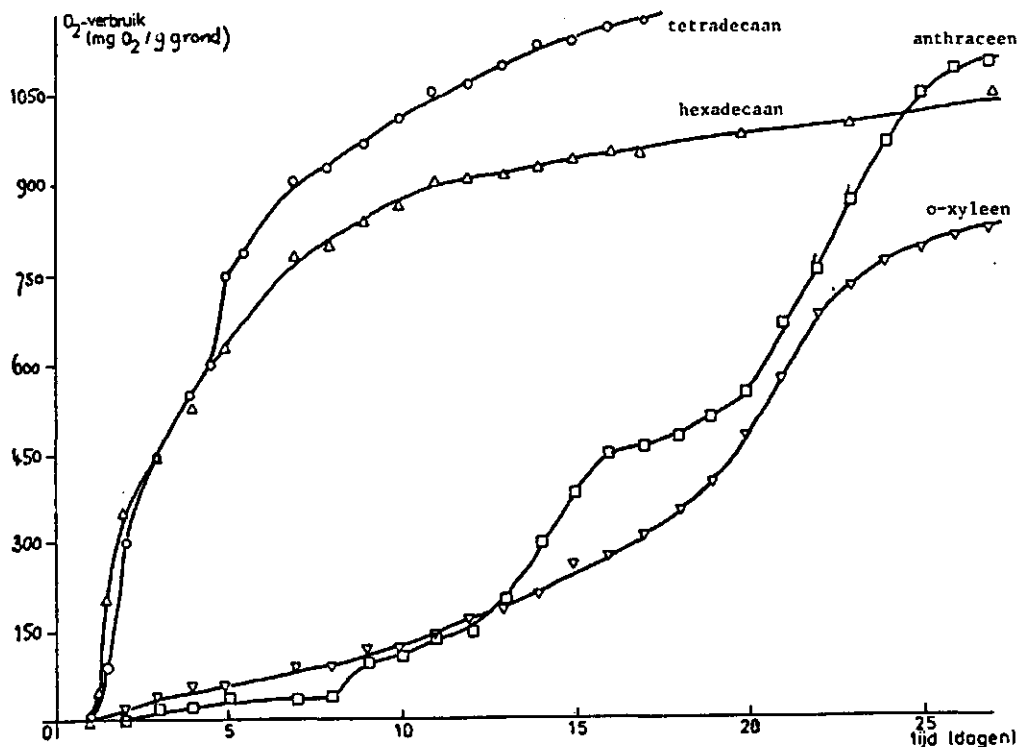


fig 5. het verloop van de zuurstofkonsumptie als functie van de tijd voor enkele enkele oliecomponenten

Als sprake is van volledige afbraak van een komponent zullen de mikroorganismen de helft van de komponent-C omzetten in CO₂, de andere helft gebruiken zij voor celopbouw.

Met behulp van de molekuulformule van de betreffende komponent kan worden berekend hoeveel zuurstof nodig is om CO₂ te vormen:

** hexadecaan $C_{16}H_{34} + 24.5 O_2 \rightarrow 16 CO_2 + 17 H_2O$,
dus 38.5 mg hexadecaan verbruikt 134 mg zuurstof

** tetradecaan $C_{14}H_{30} + 21.5 O_2 \rightarrow 14 CO_2 + 15 H_2O$,
dus 38 mg tetradecaan verbruikt 132 mg zuurstof

** o-xyleen $C_8H_{10} + 10.5 O_2 \rightarrow 8 CO_2 + 5 H_2O$,
dus 44 mg o-xyleen verbruikt 139 mg zuurstof

** anthraceen $C_{14}H_{10} + 16.5 O_2 \rightarrow 14 CO_2 + 5 H_2O$,
dus 50 mg antraceen verbruikt 148 mg zuurstof

Het gemeten zuurstofverbruik kan nu uitgedrukt worden als een percentage van het theoretisch mogelijke zuurstofverbruik:

** hexadecaan $105 \text{ mg } O_2 / 134 \text{ mg } O_2 = 78\%$

** tetradecaan $122 \text{ mg } O_2 / 132 \text{ mg } O_2 = 92\%$

** o-xyleen $80 \text{ mg } O_2 / 139 \text{ mg } O_2 = 58\%$

** anthraceen $117 \text{ mg } O_2 / 148 \text{ mg } O_2 = 79\%$

Dit percentage kan gezien worden als een maat voor het afbraakrendement.

Na extractie van de grond met hexaan in een soxhlet-apparaat en indampen van het extrakt is 20 ul geïnjecteerd in de gaschromatograaf. De chromatogrammen geven geen enkele piek te zien, er is dus geen met hexaan extraheerbaar materiaal in de grond meer aanwezig.

6.3 konklusies en diskussie

Het verschil in adaptatietijd tussen alkanen en aromaten is aanzienlijk. Tetradecaan en hexadecaan zijn relatief eenvoudige verbindingen waaraan mikroorganismen zich snel kunnen aanpassen. Anthraceen en o-xyleen hebben een meer gekompliceerde structuur, het duurt dan ook langer voordat mikroorganismen zich aan dit soort verbindingen aanpassen. Maar als zij eenmaal in staat zijn de benodigde enzymen te synthetiseren dan verloopt de afbraak snel.

De chromatogrammen geven aan dat in alle grondmonsters de pure komponent is verdwenen. De berekening laat zien dat de afbraak bijna volledig is geweest, zo'n 80 a 90%. Dit geldt evenwel niet voor o-xyleen, waarbij 58% is berekend. Dit kan betekenen dat de afbraak van o-xyleen onvolledig is geweest. Maar het is ook aannemelijk dat nogal wat o-xyleen is verdampt (o-xyleen is de meest vluchtige van de hier gebruikte verbindingen) waardoor de concentratie in de grond in werkelijkheid lager is geweest dan 4 gr per kg grond.

7 DE AFBRAAK VAN ZUIVERE OLIEKOMPONENTEN IN GROND

7.1 inleiding

Uit het vorige hoofdstuk komt naar voren dat afzonderlijke oliecomponenten snel en vrijwel volledig worden afgebroken in grond. In hoofdstuk 4 echter is beschreven dat er een restconcentratie in de grond achterblijft als wordt gewerkt met olie zelf. In dit experiment is het onduidelijk welke samenstelling het uitgangsmateriaal precies heeft. De invloed van de afzonderlijke oliecomponenten op elkaar is onderzocht door een mengsel van zuivere componenten toe te voegen aan Sinderhoevezand. Nu is de uitgangssituatie bekend. Om de afzonderlijke componenten te kunnen benoemen is een mengsel van exakt bekende samenstelling gebruikt in plaats van een standaardolie, waarin immers nog vrij veel onbekende componenten aanwezig zijn.

7.2 materialen en methode

Het mengsel van oliecomponenten heeft de volgende samenstelling:

hexadecaan	52.8%
cyclohexaan	18.7%
o-xyleen	4.1%
naftaleen	24.4%

De vloeibare koolwaterstoffen zijn gemengd en druppelend aan de grond toegevoegd. De vaste stof (hier: naftaleen) is in poedervorm aan de grond toegevoegd. Het totaal gehalte component in de grond bedraagt 4.9 gr/kg grond.

De pH is met kalk verhoogd tot pH 7. Nutrienten zijn in vier nivo's toegevoegd, nl. 0, 100, 500 en 750 mg N/kg grond in de vorm van $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. ook is fosfor toegevoegd als $\text{K}_2\text{HPO}_4:\text{KH}_2\text{PO}_4 = 2:1$.

De gift van 500 mg N/kg grond is theoretisch de optimale stikstofgift bij een olieconcentratie van ca. 5 gr/kg (C:N = 10). Het effect van bemesten is getest door tevens een lagere en een hogere concentratie toe te dienen.

Hierna zijn potten gevuld met 2 1/2 kg grond. Beluchting van de grond vond plaats door perslucht met een konstante flow over de grond heen te leiden.

Om in te kunnen schatten hoe dik de laag grond in de potten mag zijn is met behulp van de diffusiewet van Fick een berekening gemaakt om de aerobe laagdikte van een grondlaag te weten te komen:
Diffusiewet van Fick:

$$F = -D \, dc/dx$$

$$e \, dc/dt = D \, d^2c/dx^2 - a \quad \text{met } e = \text{porositeit}$$

$$a = \text{produktie}$$

$$D = \text{diffusie-constante}$$

Veronderstel evenwicht: $dc/dt = 0$

$$0 = D \, d^2c/dx^2 - a$$

$$\text{integreren levert: } D \, dc/dx = ax + C_1 \quad (1)$$

$$dc/dx = ax/D + C_1/D$$

$$\text{nogmaals integreren levert: } c = a/2D \, x^2 + C_1/D + C_2 \quad (2)$$

C_1 en C_2 zijn integratieconstanten

Aannames: als $x = 0$ dan $c = c_0$

als $x = L$ dan $D \, dc/dx = 0$ en $c = 0$

dit geeft: $0 = aL + C_1$

$c_0 = C_2$ | invullen in (2):

$$0 = a/2D \, L^2 - a/d \, L^2 + C_0 \Leftrightarrow$$

$$c_0 = a/2D \, L^2 \Leftrightarrow$$

$$L^2 = (2 \, c_0 \, D)/a \Leftrightarrow$$

$$L = \text{wortel uit } (2 \, c_0 \, D)/a$$

vul in: $D = 0.02 \, \text{cm}^2/\text{s}$

$$a = 10 \, \text{gr O}_2/\text{kg}/28 \, \text{dgn} = 6 \cdot 10^{-6} \, \text{mg}/\text{cm}^3 \cdot \text{s}$$

$$c_0 = 0.21 \, \text{cm}^3/\text{cm}^3 = 0.30 \, \text{mg}/\text{cm}^3$$

$$L = \text{wortel uit } (2 \cdot 0.3 \cdot 0.02)/6 \cdot 10^{-6} = 45 \, \text{cm}$$

Dit betekent dat in de potten overal sprake is geweest van aerobe omstandigheden.

N.a.v. bovenstaande berekening wordt de lucht niet door de grond heen geleid maar erover, in verband met een eenvoudiger proefopstelling. Regelmatig is het zuurstofgehalte van de uitstromende lucht gemeten.

Het effect van roeren is gemeten door de potten elke anderhalve week te roeren en een duplo-reeks van de met 500 ppm N bemeste grond ongeroerd te laten. Na het roeren is een grondmonster genomen voor analyse op "olie"gehalte, TOC-, en nitraatgehalte. Tegelijkertijd is een monster genomen van de ongeroerde grond.

7.3 resultaten

tabel 5: Het effect van roeren en de stikstofconcentratie op de afbraak van oliecomponenten in grond bij 20 graden celsius

	TIJD [DAGEN]	TOC [MG C/KG]	TOTAAL "OLIE" [G/KG]	NO3 [MG N/KG]

	t= 0	60.3	0.35	00.0

GEROERDE GROND				
0 ppm N	t= 8	79.8	0.17	00.0
	t=16	37.5	0.09	00.0
	t=26	54.0	0.03	00.0
	t=36	32.8	0.03	00.0
100 ppm N	t= 8	126.5	0.20	5.6
	t=16	33.5	0.07	00.0
	t=26	21.0	0.003	39.7
	t=36	25.0	0.01	50.1
500 ppm N	t= 8	179.0	0.21	00.0
	t=16	60.3	0.04	00.0
	t=26	39.0	0.01	00.0
	t=36	29.0	0.002	102.5
750 ppm N	t= 8	83.5	0.26	00.0
	t=16	52.3	0.05	00.0
	t=26	42.3	0.001	00.0
	t=36	37.5	0.005	57.6

ONGEROERDE GROND				
500 ppm N	t= 8	28.3	0.16	00.0
	t=16	51.5	0.10	5.6
	t=26	54.0	0.08	00.0
	t=36	39.0	0.02	00.0

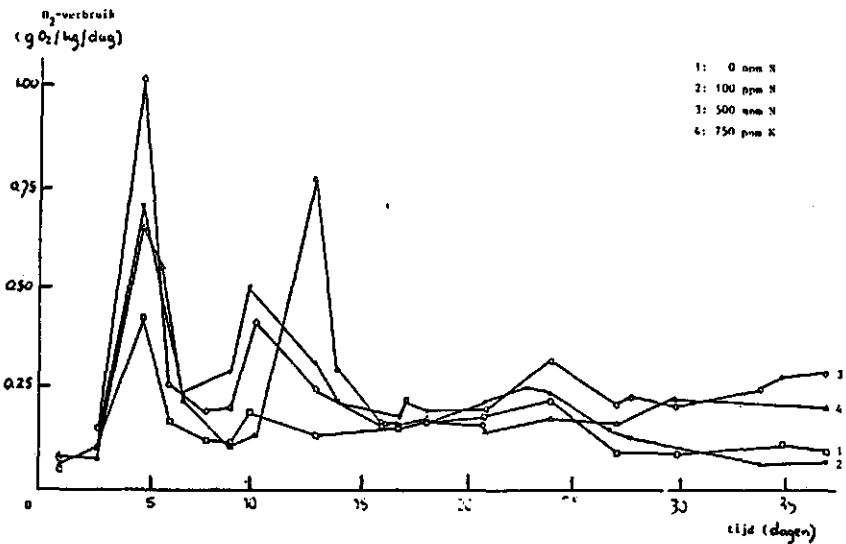
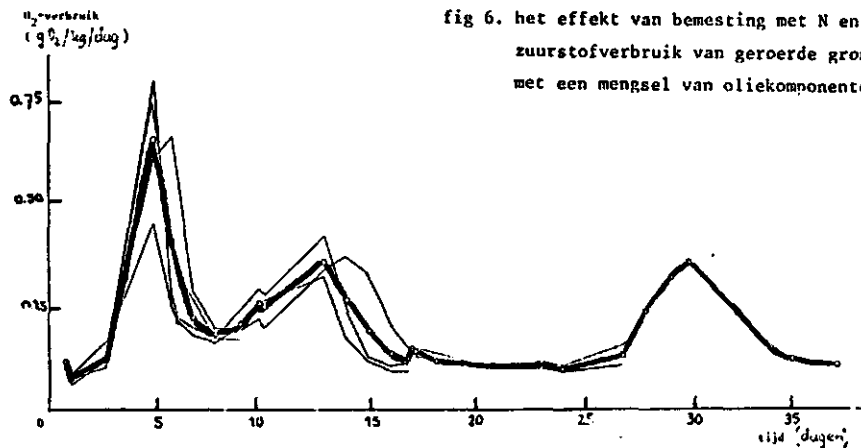


fig 6. het effect van bemesting met N en P op het dagelijkse zuurstofverbruik van geroerde grond, verontreinigd met een mengsel van oliecomponenten



lichte lijnen: de afzonderlijke metingen
donkere lijn : het gemiddelde zuurstofverbruik

fig 7. het verloop van het dagelijkse zuurstofverbruik in ongeroerde grond, verontreinigd met een mengsel van oliecomponenten, als functie van de tijd
N-bemesting: 500 mg/kg grond

Fig. 6 laat zien dat in de geroerde grond na drie dagen de zuurstofconsumptie van bijna nul naar minstens 1.0 gr O₂/kg/dag stijgt.

Omdat slechts periodiek de zuurstofconcentratie van de uit de potten stromende lucht is gemeten, is de piekhoogte geen maat voor de totale zuurstofconsumptie. Immers, het is niet duidelijk of het gemeten zuurstofgehalte de minimumconcentratie al heeft bereikt op het moment van meten. Na acht dagen treedt een tweede piek op, in de periode daarna is geen duidelijke piek meer te herkennen. Er ontstaat een min of meer rechte lijn met als gemiddelde zuurstofconsumptie zo'n 0.2 gr O₂/kg/dag. De ongeroerde grond vertoont de eerste acht dagen eenzelfde beeld. Hierna echter ontstaat verschil. De tweede piek verschijnt in

de ongeroerde grond zo'n twee dagen later. Na 16 dagen wordt ook hier de zuurstofkonsumptie konstant, zij het met een iets lagere waarde. Bovendien verschijnt alleen in de curve van de ongeroerde grond een piek na 28 dagen.

De eerste piek wordt waarschijnlijk veroorzaakt door de afbraak van hexadecaan. Immers, ook in het sapromat-experiment (hoofdstuk 6) begint de afbraak van de alkanen het eerst. De volgende pieken zijn moeilijker te definiëren omdat niet bekend is welke adaptatietijd vereist is voor cyclohexaan en naftaleen.

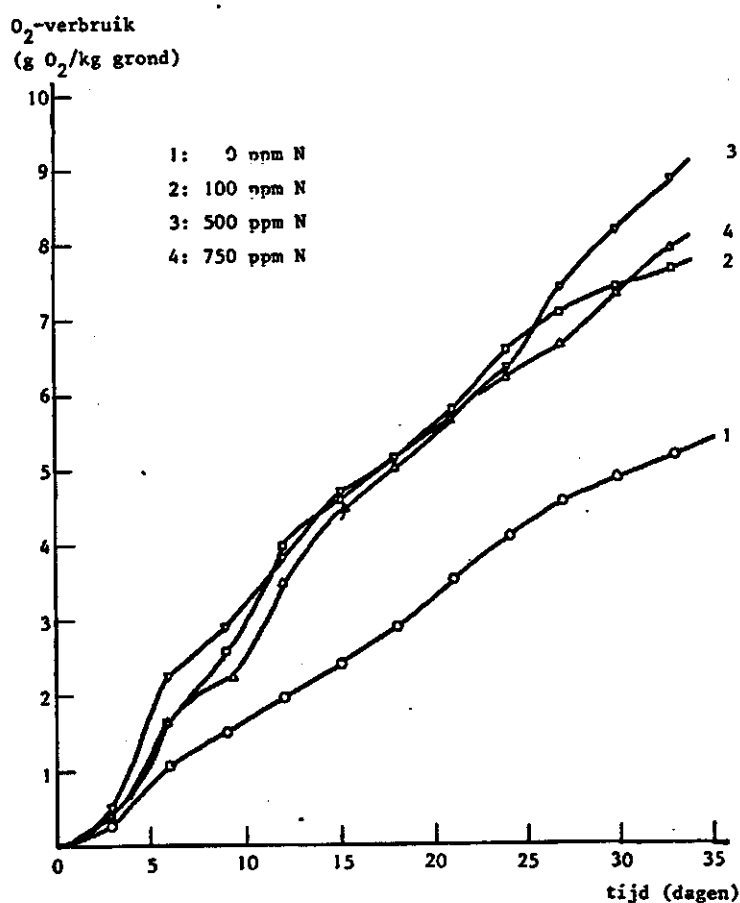


fig 8. het effect van bemesting met N en P op de zuurstofkonsumptie van grond, verontreinigd met een mengsel van oliecomponenten

De zuurstofkonsumptie van de onbemeste grond is aanzienlijk lager dan die van de bemeste grondmonsters (fig. 8). De drie bemestingsnivo's geven eenzelfde beeld, waarbij de met 500 mg N/kg bemeste grond iets meer zuurstof consumeert dan de met 100 resp. 750 mg N/kg bemeste grond.

Ook hier kan het theoretisch zuurstofverbruik van de grond worden berekend als wordt uitgegaan van volledige omzetting van de componenten in enerzijds CO₂ (50%) en anderzijds celmateriaal (50%).

	TOTAAL TOEGEVOEGD (GR/KG)	50% (GR/KG)	BENODIGDE HOEVEELHEID ZUURSTOF (GR/KG)
hexadecaan	2.60	1.30	4.51
cyclohexaan	0.92	0.46	1.58
o-xyleen	0.20	0.10	0.32
naftaleen	1.20	0.60	1.80
TOTAAL	4.92	2.46	8.21

Het gemeten zuurstofverbruik (8 a 9 gr/kg) in de bemeste grond is van de zelfde orde van grootte als het geschatte zuurstofverbruik.

De komponentconcentratie in de hexaanextrakten van de grond is erg laag. Het extraktierendement op het tijdstip t=0 is 7% ! Blijkbaar is hexaan een slecht extraktiemiddel voor dit mengsel van componenten. Dit is getest door een portie grond na extraktie met hexaan nogmaals te extraheren met dichloormethaan.

De respektievelijke chromatogrammen (zie bijlage 3) laten zien dat inderdaad met hexaan onvolledige extraktie optreedt. Buiten het extraktiemiddel kunnen ook andere factoren verantwoordelijk zijn voor het lage extraktierendement, bijvoorbeeld verdamping van de koolwaterstoffen tijdens het indampen van het extrakt.

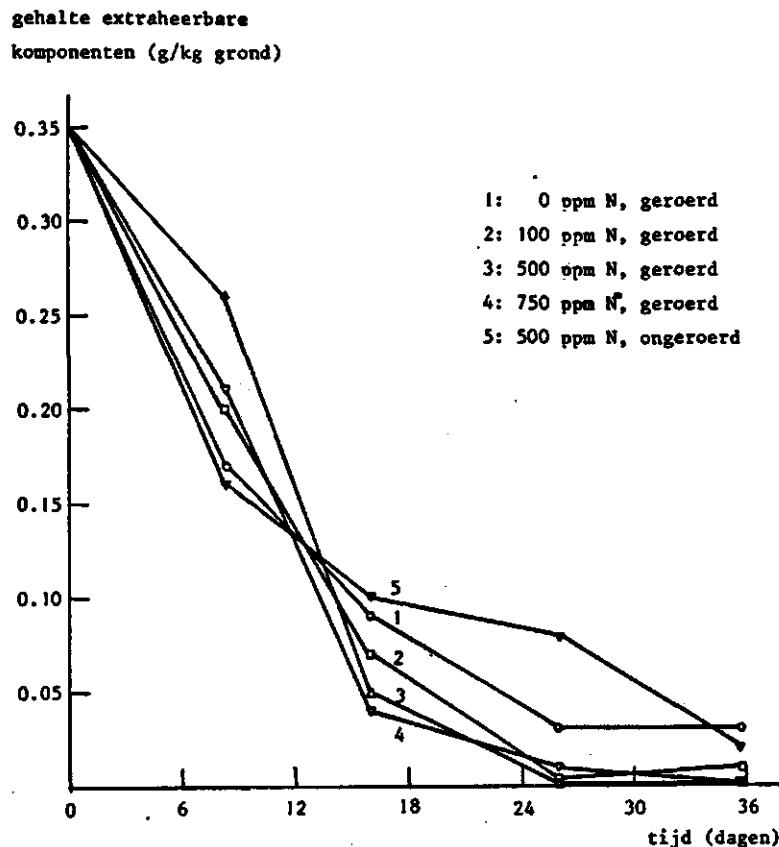


fig 9. het effect van bemesting op de afbraak van oliecomponenten
in grond

Door gebrek aan goede gegevens over de componentconcentratie in de grond is het niet mogelijk een kwantitatieve uitspraak te doen over de concentratieafname in de grond.

Maar als uitgegaan wordt van een zelfde rendement per extractie kan wel iets gezegd worden over de onderlinge verhouding van de gehalten. Dan is er sprake van duidelijke afname van de componentconcentratie in alle grondmonsters, zowel met als zonder nutriënten en zowel in geroerde als ongeroerde grond.

De onderlinge verschillen zijn erg klein.

De resultaten van de TOC-bepalingen in de ongeroerde grond mogen niet onderling vergeleken worden omdat deze op elk tijdstip in een andere pot zijn bepaald. De te verwachten verschillen per pot zijn dermate groot, dat het onverantwoord is de waarden van de TOC aan elkaar te relateren als deze waarden gemeten zijn in verschillende potten.

In de met 100 en 500 ppm bemeste grond vond in eerste instantie een verhoging van de hoeveelheid in water oplosbaar organisch koolstof plaats, gevolgd door een gestage afname van de TOC tot onder het nivo van schoon zand. Ook de waarden van de TOC in de met 750 ppm bemeste en de onbemeste grond geven een dergelijk beeld te zien, met als verschil dat de initiele toename van de TOC minder groot is geweest.

De analyses van de waterextrakten op de HPLC geven aan dat in sommige grondmonsters nitraat aanwezig is, terwijl dit niet is toegevoegd aan de grond en ook niet in schoon zand aangetroffen is. Vooral in de met 100 ppm N bemeste grond is sprake van een duidelijke toename van de nitraatconcentratie.

7.4 konklusies en diskussie

Na het toevoegen van oliecomponenten aan grond ontstaat een duidelijk verhoogde aktiviteit in die grond. Ook gedurende de laatste dagen van het experiment, als de zuurstofkonsumptie konstant is geworden, is geen sprake van een normale zuurstofkonsumptie voor humusarme zandgrond (= Sinderhoevezand).

De volgende gegevens zijn van belang (J. HOEKS, mondelinge mededeling)

zuurstofverbruik:

duinzand	$(0.5 - 1.0) \times 10^{-7}$ (ml O_2 /s/ml grond)
duinzand + plant	$(2.7 - 4.1) \times 10^{-7}$ (ml O_2 /s/ml grond)
zavel + plant	$(2.5 - 5.8) \times 10^{-7}$ (ml O_2 /s/ml grond)

In dit experiment is het zuurstofverbruik 0.17 gr O_2 /kg/dag. Dit komt overeen met $21E-7$ ml O_2 /s/ml grond, dus een faktor 20 tot 40 hoger. Dus ook hier is sprake van een na-effekt van verontreiniging van grond met koolwaterstoffen.

De doelstelling van dit experiment was het onderzoeken van de invloed van de verschillende componenten op elkaar. Dit is nu onmogelijk door het slechte extraktierement.

De zuurstofkonsumptie van de grond vertoont duidelijke pieken in de tijd, zowel in de geroerde als de ongeroerde grond. Meerdere pieken ontstaan door het verschil in adaptatietijd van de mikroorganismen aan

de verschillende componenten. De laat verschijnende piek in de ongeroerde grond is waarschijnlijk toe te schrijven aan de afbraak van een van de aromaten. Deze piek verschijnt niet in de geroerde grond, wel is in deze grond sprake van een kleine piek in een iets eerdere fase. Misschien is ook deze piek afkomstig van de afbraak van de betreffende aromaat, waarbij een snellere adaptatie heeft plaatsgevonden als gevolg van het roeren (vergroten van de kontaktmogelijkheden tussen de mikro-organismen en de komponent). Een bewijs voor deze stelling geeft dit experiment zeker niet, hiervoor is nader onderzoek nodig.

Het gemeten totaal zuurstofverbruik wijst op goede resultaten als de aannames gelden (de helft van de olie-C wordt omgezet in bakterie-C).

Als het extraktierendement in alle gevallen 7% is geweest, dan kan berekend worden dat de eindconcentratie componenten-totaal ca. 0.4 gr "olie" per kg grond is (gemeten: 0.03 gr/kg). Dus ook als hiermee rekening wordt gehouden is de eindconcentratie komponent onder de B-norm van 1000 mg olie per kg grond gekomen.

De aanname dat de C:N-ratio is 10 lijkt geoorloofd aangezien de met 500 mg N/kg bemeste grond het meeste zuurstof verbruikt.

Het gehalte in water oplosbaar koolstof (TOC) stijgt eerst, maar daalt daarna zelfs tot onder de hoeveelheid in schoon Sinderhoevezand.

De stijging kan worden veroorzaakt door afbraakprodukten van de componenten, de daling ontstaat dan door verdere afbraak van deze tussenprodukten.

De resultaten vormen een bevestiging dat boven de optimum konzentratie stikstof de afbraak kan remmen. In elk geval stimuleert een hogere stikstofgift de afbraak niet.

8 EINDKONKLUSIE

Als grond wordt verontreinigd met olie of oliecomponenten vindt een sterke verhoging van de aktiviteit in de bodem plaats als gevolg van microbiologische afbraak van de verontreiniging. Uit zuurstofkonsumptiemetingen van de grond komt naar voren dat na een periode van adaptatie van de mikroorganismen aan het substraat een exponentiele groei van de bakteriepopulatie plaatsvindt. In deze fase wordt de olie zowel omgezet in CO₂ als in celmateriaal.

De afbraak van de olie wordt gestimuleerd door de beschikbaarheid van nutrienten. Uit de experimenten blijkt geen eenduidige voorkeur voor ammonium of nitraat als meststof.

Na een (korte) periode van adaptatie volgt een fase waarin de bakteriepopulatie groeit. Als groeiremmende factoren gaan optreden ontstaat een stationaire fase, waarin geen verdere groei meer plaatsvindt, maar waarin nog wel enige zuurstof wordt gekonsumeerd.

In deze experimenten is het substraat de limiterende faktor gezien de lage concentraties in de hexaanextrakten en de plaatjes van de chromatogrammen (voornamelijk hoogkokende componenten in de grond).

De experimenten met de "Wijster"-grond tonen aan dat bij gebruikmaking van landfarmingstechnieken het mogelijk is het oliegehalte in de grond terug te brengen tot onder de B-norm uit de interimwet bodemsanering.

Dit betekent dat landfarming een bruikbare methode voor bodemsanering kan zijn, mits voldaan is aan een aantal voorwaarden voor optimale microbiologische omstandigheden.

Hieronder vallen onder anderen de nutrientenvoorziening in de grond. Het is aan te bevelen om voorafgaand aan de inrichting van het landfarmingsterrein een kleine potproef met de verontreinigde grond uit te voeren bij verschillende bemestingsnivo's. Aan de hand van de verkregen resultaten kan dan de optimale mestgift voor de betreffende grond worden berekend. Uit de experimenten komt immers naar voren dat geen eenduidig bemestingsadvies kan worden gegeven. De optimale mestgift is afhankelijk van "grondeigen" omstandigheden, zoals de samenstelling van de olie, de grondsoort en de reeds aanwezige nutrientenconcentratie in de grond. Voor elk specifiek verontreinigingsgeval moet het optimale nutriëntennivo apart worden bepaald. Als dit niet haalbaar is kan een redelijke voorspelling worden gedaan als het oliegehalte en het stikstofgehalte van de grond bekend zijn.

Als wordt gezorgd voor een optimale N-gift is de kans op uitspoeling van nitraat gering. De mikroorganismen gebruiken de aanwezige stikstof bij de opbouw van celmateriaal (immobilisatie van stikstof). Deze vastlegging is van tijdelijke aard, na de olieafbraak komt weer stikstof vrij (mineralisatie van stikstof). Of deze stikstof in de vorm van nitraat vrijkomt is nog onbekend.

Ook de zuurstofvoorziening in de grond is een belangrijke faktor. Het is gebleken dat omroeren van de grond een positief effect heeft op de afbraaksnelheid van de olie. Dit kan enerzijds te maken hebben met een verbeterde structuur van de grond en daardoor een verbeterde aëratie, anderzijds kan roeren zorgen voor een betere spreiding van de olie zodat een groter oppervlak ontstaat voor aanhechting van bacterien.

Een belangrijk verschil tussen de beschreven experimenten en de praktijk van landfarming is de temperatuur. Er is verder onderzoek verricht naar de precieze effecten van temperatuur op de afbraaksnelheid van olie (zie verslag van A.J. Boekhold: Afbraak van olie en oliecomponenten door mikroorganismen), maar nu al kan gesteld worden dat het zeker zinvol is de temperatuur van de grond in een landfarm hoog te houden.

Er zijn genoeg mogelijkheden om de afbraakomstandigheden van olie in grond te optimaliseren, waardoor landfarming een bruikbare methode van bodemsanering kan worden.

SAMENVATTING

Door middel van ademhalingsexperimenten is de afbraak van olie in grond onderzocht. De afbraak van ruwe olie wordt gestimuleerd door de aanwezigheid van nutriënten in de grond. Analyse van de stikstofbalans laat zien dat twee fases optreden. In de eerste fase wordt de olie omgezet in enerzijds kooldioxide en anderzijds in bacteriemateriaal. Hierbij wordt stikstof vastgelegd. In de tweede fase wordt de aanwezige bacteriepopulatie gemineraliseerd waarbij zuurstof wordt verbruikt en stikstof weer vrijkomt. In deze fase vindt weinig tot geen olieafbraak meer plaats, zij wordt gekarakteriseerd als een na-effekt van olieverontreiniging.

De afbraak van gasolie in grond wordt ook gestimuleerd door de aanwezigheid van nutriënten, hier blijkt een duidelijke voorkeur voor ammoniumnitraat boven natriumnitraat als stikstofbron. Bovendien wordt hier de afbraak geremd door een te hoge stikstofgift. Dit betekent dat het belangrijk is de optimum stikstofconcentratie te bepalen.

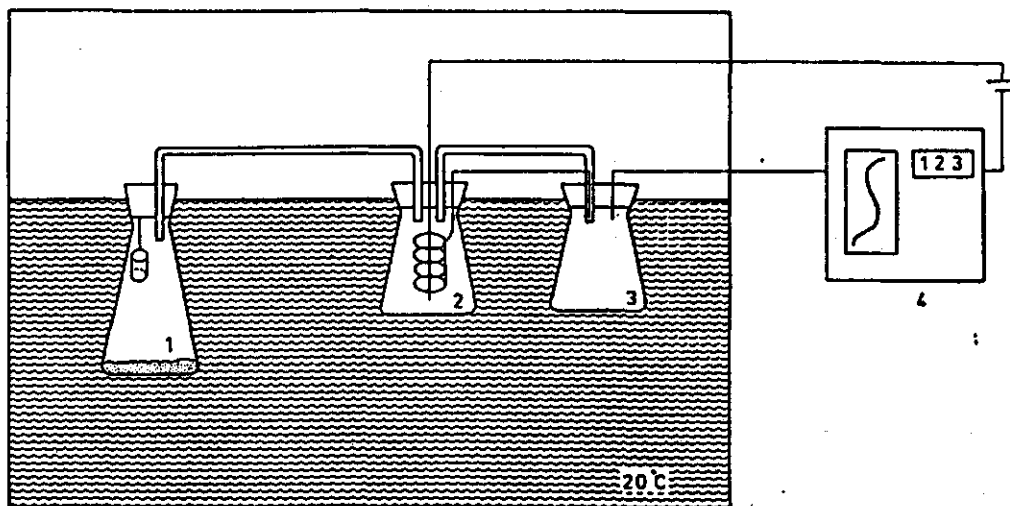
De afbraak van de verzadigde fraktie verloopt sneller dan de afbraak van de aromatische fraktie, maar als eenmaal adaptatie van de mikroorganismen aan het substraat heeft plaatsgevonden worden beide frakties vrijwel volledig afgebroken.

Als de oliecomponenten zijn afgebroken blijft de zuurstofkonsumptie van de grond hoger in vergelijking met niet-verontreinigde grond. Ook dit is een na-effekt van olieverontreiniging.

In alle experimenten is de olieconcentratie na afloop tot onder de B-norm (1000 mg olie per kg grond) uit de Interimwet Bodemsanering gedaald. Dit betekent dat landfarming een goede methode van bodemsanering kan zijn.

PRINCIPE VAN DE SAPROMAT

De Sapromat is in de eerste plaats ontwikkeld als instrument voor de bepaling van BOD in watermonsters. Het werd in deze proef gebruikt om de zuurstofkonsumptie in een hoeveelheid grond te bepalen. In onderstaande figuur is schematisch weergegeven uit welke onderdelen de Sapromat is opgebouwd.



In een op 20°C gehouden waterbad zijn drie van de buitenlucht afgesloten vaten aangebracht, die door middel van slangen in open verbinding met elkaar staan.

In vat 1 wordt een afgewogen hoeveelheid grond gebracht. Het vaatje dat aan de stop is bevestigd, wordt gevuld met natronkalk met indikator, die aangeeft wanneer het natronkalk verzadigd is met koolzuur.

Vat 2 bevat een oplossing van kopersulfaat waarin twee elektroden steken. Een van de twee elektroden staat in kontakt met vat 3 waarin een zoutoplossing is gebracht. In deze zoutoplossing steekt nog een tweede elektrode die verbonden is met een recorder.

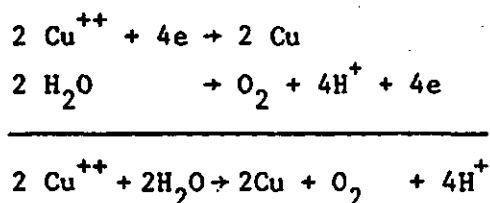
De hier gebruikte Sapromat bevat 6 eenheden van deze drie vaten. Alle zes eenheden zijn op dezelfde recorder aangesloten die simultaan zowel cijfermatig als grafisch het verloop van de zuurstofkonsumptie in de zes eenheden kan registreren.

Het principe van de Sapromat is als volgt:

In vat 1 wordt bij de afbraak van organisch materiaal door bacteriën

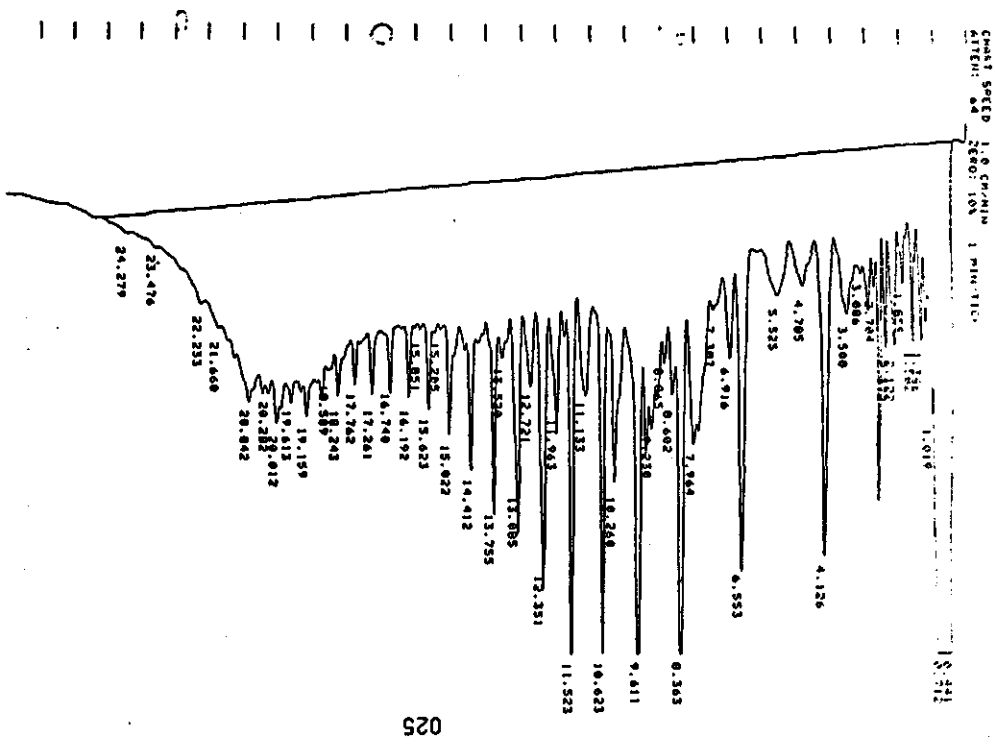
zuurstof verbruikt en kooldioxyde afgegeven aan de omgeving. Doordat de koolzuur door de natronkalk wordt geadsorbeerd zal er een onderdruk ontstaan, niet alleen in vat 1 maar ook in de andere vaten.

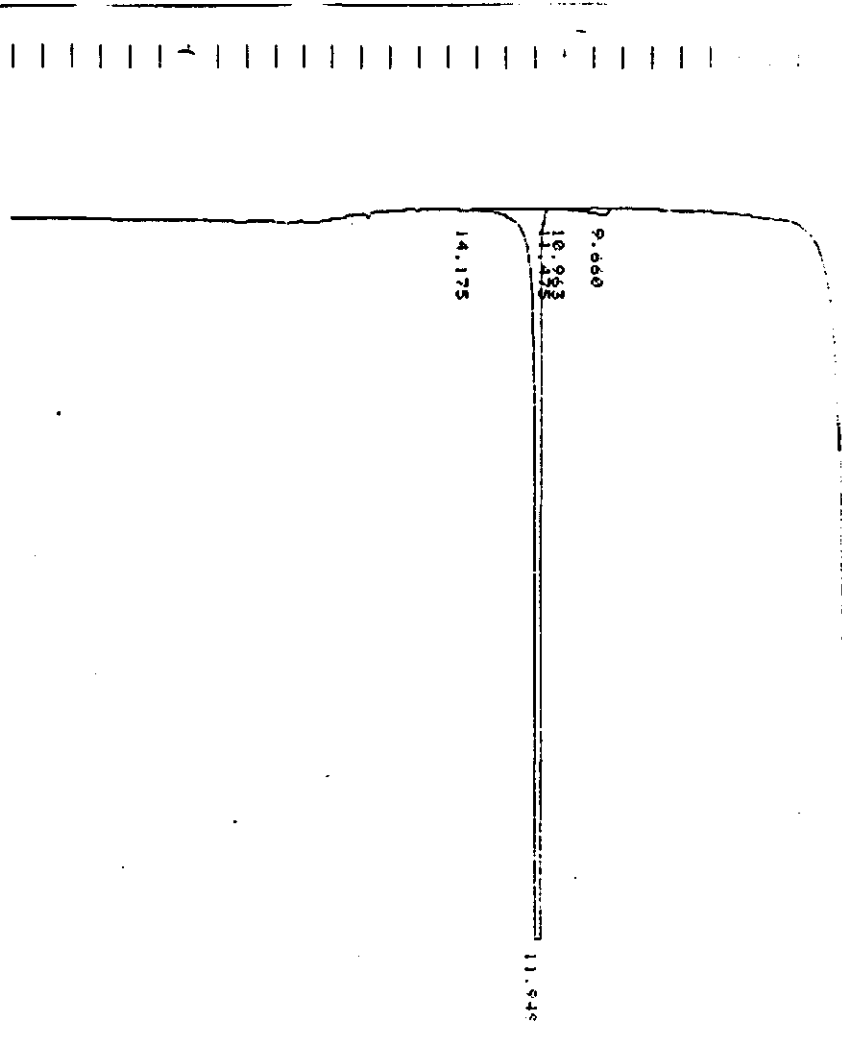
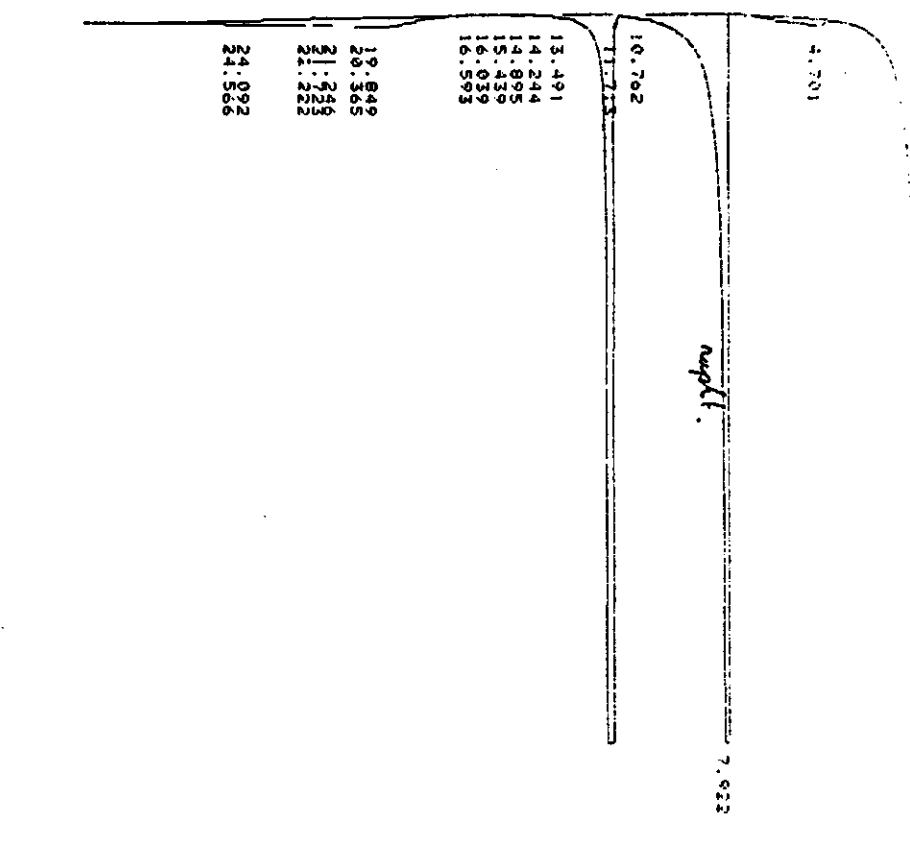
In vat 3 zorgt de onderdruk voor het stijgen van het vloeistofniveau in de buis die in de oplossing steekt. Zodra de elektrode, die zich in die buis bevindt, in aanraking komt met de zoutoplossing, kan er een stroom gaan lopen. Door deze stroom vindt er elektrolyse plaats in de kopersulfaat oplossing in vat 2, waarbij zuurstof wordt ontwikkeld volgens:



zodoende wordt voortdurend de gekonsumeerde zuurstof aangevuld met verse zuurstof en blijven de omstandigheden gedurende de proef gelijk. De stroom die de elektrolyse veroorzaakt, wordt gemeten, omgerekend naar mg O₂ per liter en getalsmatig en grafisch weergegeven op de recorder.

Voor de hier verrichte proeven moest mg O₂ per liter nog omgerekend worden naar mg O₂ per kg grond.





BILAGE 3

chromatogrammen van de test-extrakten van een grondmonster, verontreinigd
 met een mengsel van zuivere oliecomponenten
 links: het hexaan-extrakt
 rechts: het dichloormethaan-extrakt

BIJLAGE 4: GEBRUIKTE CHEMICALIEN

ammoniumnitraat: Merck 99% zuiver

diwaterstofkaliumfosfaat: J.T. Baker Chemicals 98.8% zuiver

waterstofdikaliumfosfaat: J.T. Baker Chemicals 98.8% zuiver

calciumcarbonaat: Merck 99% zuiver

natronkalk met indikator: Lamers & Pleuger

n-hexaan: Lamers & Pleuger (C₆H₁₄) chemisch zuiver

dichloormethaan: Lamers & Pleuger (CH₂Cl₂) chemisch zuiver

cyclohexaan: Lamers & Pleuger (C₆H₁₂) chemisch zuiver

naftaleen: J.T. Baker Chemicals (C₁₀H₈)

anthraceen: J.T. Baker Chemicals (C₁₅H₉)

o-xyleen: J.T. Baker Chemicals (C₆H₄(CH₃)₂)

n-hexadecaan: J.T. Baker Chemicals (CH₃(CH₂)₁₄CH₃)

n-tetradecaan: J.T. Baker Chemicals (CH₃(CH₂)₁₂CH₃)

BIJLAGE 5: ANALYSEMETHODEN

pH: schud 20 gr grond met 50 ml demi-water gedurende twee uur. Na filteren door een papierfilter wordt de pH gemeten met een Philips digital pH meter PW 9408 type A213 met temperatuurcorrectie.

vochtgehalte: Na wegen van een portie verse grond wordt de grond gedroogd in een droogstoof bij 50 graden celsius gedurende een nacht. De droge grond wordt gewogen en het vochtgehalte wordt berekend door natte grond minus droge grond te delen door de hoeveelheid droge grond. Vermenigvuldigen met 100 levert het vochtgehalte in procenten.

TOC: Het waterextract van de grond (zie pH-bepaling) wordt gefilterd over een 0.45 μ filter. Hiervan wordt 20 μ l ingespoten in de Beckman TOC Analyzer Model 915A. De piekhoogte wordt gerelateerd aan de piekhoogte van een standaardserie.

N

Het nitraatgehalte is bepaald met behulp van HPLC volgens een door het ICW ontwikkelde methode.

De ammoniumconcentratie is bepaald volgens NEN 3235-6.1.1

De olieconcentratie is als volgt bepaald:

- breng ca. 100 gr grond in een papieren huls en sluit deze af met een wattenprop
- Vul een kolf met zeer zuivere n-hexaan + enkele kooksteentjes
- sluit de kolf aan op het Soxleth-apparaat
- schakel het verwarmingselement en de koeling aan en extraheer gedurende 8 uur
- na een nacht overstaan wordt het gasolie-extract gezuiverd door het extract over een florisilkolommetje te leiden
- vervolgens wordt het extract ingedampt op een Kuderna-Danisch apparaat, gevolgd door indampen via het doorleiden van stikstofgas

- nu worden enkele uliters ingespoten in de gaschromatograaf
- het oliegehalte wordt berekend door het piekoppervlak te relateren aan een standaardoplossing.

De gasolie-analyses zijn verricht met een Packard Becker 417 gaschromatograaf met FID. De ruwe-olie-analyses zijn verricht met een GC system 8200 met FID.

